VOLUME 3 1960 Nº 3

ANNALES

DE L'

INSTITUT PHYTOPATHOLOGIQUE BENAKI

NOUVELLE SÉRIE

KIPHISSIA-ATHÈNES
GRÈCE

20 SEP 1961

SOMMAIRE

Page

VASSILIOU A. A., D. A. DADINAKI-ROUSSOPOULOU et G. S. SPYROPOULOS.— Méthodes de détermination des résidus de certains mélanges d'insecticides dans l'huile d'olive 97

VASSILIOU A. A., D. A. DADINAKI-ROUSSOPOULOU et G. S. SPYROPOULOS.— Méthode chimique pour la constatation et l'évaluation des attaques du blé et de la farine par les Pentatomides 102

ZACHOS D. G. and C. G. PANAGOPOULOS. — Root and crown rot of alfalfa due to non parasitic causes 113

ZACHOS D. G. — Premières observations sur une maladie chronique de la vigne 117

DÉMÉTRIADÈS S. D., N. A. GAVALAS and C. D. HOLEVAS.— Boron deficiency in olive groves of Lesbos island 119

DÉMÉTRIADÈS S. D., C. D. HOLEVAS and N. A. GAVALAS. — A non parasitic disease of olive probably caused by abnormal Ca/Mg ratio within the plant 130

SOULIOTIS M. C. et TH. A. COSTACOS en collaboration avec I. D. IOANNIDIS et Mme E. G. CAPONI-AGOROPOULOS. — Recherches expérimentales sur la lutte contre la teigne de l'olivier 139

ANNALES
DE L'
INSTITUT PHYTOPATHOLOGIQUE BENAKI
NOUVELLE SÉRIE

VOLUME 3 1960 Nº 3

MÉTHODES DE DÉTERMINATION DES RÉSIDUS DE CERTAINS MÉLANGES D'INSECTICIDES DANS L'HUILE D'OLIVE [1]

par

A. A. VASSILIOU, D. A. DADINAKI-ROUSSOPOULOU
et G. S. SPYROPOULOS

Pour combattre le dacus de l'olive on emploie toutes sortes d'insecticides durant la période entière de la maturation des fruits.

Ces insecticides laissent dans l'huile d'olive des résidus, dont la quantité dépend de leur solubilité dans l'huile et dans les sucs, de la vitesse de leur désintégration et de quelques autres facteurs secondaires (température, vents etc.).

Comme il arrive fréquemment que, pour combattre le dacus depuis le commencement jusqu'à la fin de la maturation, deux insecticides différents soient utilisés, il est naturel de se demander comment on pourrait dans ce cas déterminer, sur un seul et même lot d'huile, les résidus des deux insecticides dont aura fait usage.

Nous avons abordé, pour commencer, le cas d'un mélange de deux insecticides ordinaires, le Parathion et le Phosphamidon.

Le premier est entièrement soluble dans l'huile et pratiquement insoluble dans l'eau.

Le Phosphamidon, de son côté, est soluble dans l'eau en toutes proportions, tandis que dans l'huile il est soluble à 8,12% à 25 °C.

La détermination des résidus du Parathion dans l'huile d'après la méthode Averell-Norris, modifiée par les chimistes de la Maison

[1] Reçu pour publication le 2 Septembre 1960

Bayer, n'est aucunement entravée par la présence simultanée de résidus de Phosphamidon, puisque la molécule de ce dernier produit ne contient pas le groupe $-NO_2$. (rappelons que cette méthode est basée sur la réduction du groupe $-NO_2$ de la molécule du Parathion en $-NH_2$, diazotation et copulation dont l'intensité de la coloration produite constitue une mesure pour l'évaluation de la quantité contenue).

TABLEAU I

Montrant la teneur en Phosphamidon et Parathion dans les huiles, contaminées avec ces insecticides.

No d'ordre	Détail	Taux enregistrés en p.p.m.	
		Phosphamidon *	Parathion *
1	Huile contenant 2 p.p.m. de Phosphamidon	1,89	
2	» » 2 p.p.m. de Parathion		1,96
3	» » mélange de 1 p.p.m. de Phosphamidon avec 1 p.p.m. de Parathion	0,94	0,98
4	» » » de 0,5 p.p.m. de Phosphamidon avec 1 p.p.m. de Parathion	0,44	0,44
5	» » » de 1 p.p.m. de Parathion avec 0,25 p.p.m. de Phosphamidon	0,241	0,99
6	» » » de 0,20 p.p.m. de Parathion avec 0,20 p.p.m. de Phosphamidon	0,198	0,18
7	» » » de 0,10 p.p.m. de Parathion avec 0,20 p.p.m. de Phosphamidon	0,185	0,098
8	» » » de 4 p.p.m. de Parathion avec 0,5 p.p.m. de Phosphamidon	0,460	3,720
9	Huile contenant 1 p.p.m. de Parathion examinée d'après la méthode pour la détermination des résidus de Phosphamidon	Taux du témoin	

* Les valeurs ci-dessus ont été obtenues après soustraction des valeurs des témoins correspondants.

Il s'ensuit que la détermination des résidus de Parathion peut être normalement accomplie selon la méthode précitée, tout comme s'il n'y avait point de résidus de l'autre insecticide.

Pour ce qui concerne la détermination des résidus de Phosphamidon dans l'huile (2), basée sur la séparation de la substance active de l'huile et sur la détermination du groupe phosphorique, le problème qui se pose consiste à éviter le risque de prélever en même temps une certaine quantité de Parathion, dont la molécule contient aussi un groupe phosphorique, et de surajouter lors du calcul final ce phosphore à celui du Phosphamidon.

Les expériences décrites ci-dessous n'ont pas confirmé cette hypothèse, car le phosphore déterminé en définitive appartient entièrement au Phosphamidon.

Ayant préparé séparément des solutions de Parathion et de Phosphamidon dans de l'huile, on a d'abord enregistré les taux respectifs, puis, après avoir mélangé les deux solutions dans des proportions diverses, on a trouvé les taux respectifs.

Le tableau I présente les résultats enregistrés.

L'examen des résultats consignés dans le tableau précédent permet de conclure que les taux enregistrés pour chacun des deux résidus ne diffèrent pas des taux qui aurait été notés quand il n'y aurait point de résidus de l'autre produit, le Parathion étant déterminé d'après la méthode Averell-Norris et le Phosphamidon d'après la notre (2), en deux prises d'un même échantillon d'huile.

Nous avons aussi examiné le cas de résidus laissés par une autre combinaison d'insecticides, d'un usage également courant: le Rogor-Parathion.

Le Rogor est soluble dans l'eau à 2,5% à 21 °C et il présente aussi une notable solubilité dans l'huile.

La détermination isolée de ses résidus dans l'huile est basée sur la séparation de la substance active de l'huile et sur la détermination du groupe phosphorique contenu dans sa molécule.

Ici aussi, dans le cas du Rogor-Parathion, la présence du Rogor n'empêche point la détermination des résidus de Parathion d'après la méthode précitée, puisque sa molécule ne contient pas le groupe $-NO_2$.

Toutefois, pour les mêmes motifs que dans les cas précédents (Parathion-Phosphamidon), il convient d'examiner dans quelle mesure l'application de la méthode de détermination du Rogor dans l'huile se trouve affectée par la présence du Parathion.

Nous avons donc préparé, séparément dans de l'huile, des solutions de Rogor et de Parathion, que nous avons examinées d'après les mé-

thodes précitées, et nous avons ensuite mélangé ces deux produits en solutions de proportions diverses.

On trouvera les résultats de ces examens dans le tableau II.

TABLEAU II

Montrant la teneur trouvée en Rogor et Parathion dans les huiles, contaminées avec ces insecticides.

No d'ordre	Détail	Taux enregistrés en p.p.m.	
		Rogor *	Parathion *
1	Huile contenant 2 p.p.m. de Rogor.	1,92	
2	» » 2 p.p.m. de Parathion.		1,92
3	» » mélange de 1 p.p.m. de Rogor avec 1 p.p.m. de Parathion.	0,92	0,99
4	» » » de 0,5 p.p.m. de Rogor avec 0,5 p.p.m. de Parathion.	0,48	0,50
5	» » » de 0,25 p.p.m. de Rogor avec 1 p.p.m. de Parathion.	0,21	0,99
6	» » » de 0 20 p.p.m. de Rogor avec 0,20 p.p.m. de Parathion.	0,17	0,18
7	» » » de 0,10 p.p.m. de Rogor avec 0,10 p.p.m. de Parathion.	0,087	0,097
8	» » » de 0,50 p.p.m. de Rogor avec 4 p.p.m. de Parathion.	0,475	3,96
9	Huile contenant 1 p.p.m. de Parathion examinée d'après la méthode pour la détermination des résidus de Rogor	Taux du témoin	

* Les valeurs ci-dessus ont été obtenues après soustraction des valeurs des témoins correspondants.

En examinant les données fournies par ce tableau on aboutit, ici aussi, à la conclusion que les résultats enregistrés sont tels qu'ils auraient été en cas d'absence de l'une des deux substances actives, déterminées l'une, le Parathion, d'après la méthode Averell-Norris, telle qu'elle a été modifiée par les chimistes de la Maison Bayer, l'autre, le Rogor, d'après notre méthode (3), en solutions distinctes prélevées sur le même échantillon d'huile.

Il ressort de ce qui précède que pour ce qui concerne les combinaisons des insecticides qui ont fait l'objet de notre examen, il est possible de déterminer les résidus de leur mélange dans l'huile.

Nous nous proposons d'étendre prochainement notre recherche à d'autres cas de résidus laissés par des mélanges de divers insecticides.

BIBLIOGRAPHIE

1. AVERELL P.R. and NORRIS M. V., 1948. — Estimation of Small Amounts of O,O diethyl- O,p- nitrophenyl thiophosphate. *Anal. Chem*, **20**, 753.

2. VASSILIOU A. A., DADINAKI - ROUSSOPOULOU D., BALAYANNIS P. et SPYROPOULOS G., 1960. — Méthode de détermination des résidus de l'insecticide Phosphamidon dans l'huile d'olive. *Ann. Inst. Phytopath. Benaki*, N.S. **3** : 83 - 90.

3. VASSILIOU A.A., ADAM N. et DADINAKI - ROUSSOPOULOU D., 1959. — Méthodes de détermination des résidus de l'insecticide Rogor dans l'huile d'olive et les fruits de l'olivier. *Ann. Inst. Phytopath. Benaki*, N. S., **2** : 12 - 23.

Ann. Inst. Phytopath. Benaki, N.S., 3 : 102-112, 1960.

MÉTHODE CHIMIQUE POUR LA CONSTATATION ET L'ÉVALUATION DES ATTAQUES DU BLÉ ET DE LA FARINE PAR LES PENTATOMIDES [1]

par

A. A. VASSILIOU, D. A. DADINAKI-ROUSSOPOULOU et G. S. SPYROPOULOS

Le blé, un des principaux produits de la terre grecque, subit tous les ans des dégâts occasionnés par certains insectes appartenant à la famille des Pentatomidae, du groupe des Hétéroptères (1, 2, 4, 9, 12, 13).

On a constaté la présence jusqu'ici dans le blé, produit en Grèce, les espèces de Pentatomidae suivantes :

Dorycoris baccarum L., *Aelia rostrata* Boheman, *Eurygaster maura* L., *Eurygaster austriaca* Schak.

Ces insectes entravent la croissance des céréales, dont ils attaquent les épis et les graines non mûres durant toute la période de leur maturation. Ils creusent un trou dans l'épiderme des graines, y introduisent leur trompe et injectent de la salive, laquelle forme avec le contenu des graines un aliment nutritif qu'ensuite ils suçent pour s'en nourrir.

La salive ainsi introduite contient des enzymes protéolytiques qui décomposent les protéines (7, 10).

L'aspiration de la salive injectée n'étant pas totale, il en reste toujours dans le blé, après le sucement, une certaine quantité qui poursuit la destruction des protéines (3, 5, 6). En d'autres termes, le dommage causé par l'attaque des insectes est double : d'une part ils prélèvent sur le blé certaines quantités de «lait» et, d'autre part, ils y laissent des enzymes qui continuent l'altération des protéines, au détriment de la qualité et de la quantité (8,11).

Les dégâts que cause au blé l'attaque de ces insectes sont nombreux et divers (10) :

[1] Reçu pour publication le 28 Septembre 1960.

1) Altération de la forme des grains.
2) Rétrécissement de leurs dimensions et diminution de leur poids spécifique (ratatinement, déformation).
3) Diminution et altération des substances azotées.
4) Perte des propriétés de panification des farines provenant du blé attaqué.
5) Perte des propriétés de panification des farines restées indemnes, pour peu qu'elles aient été mélangées avec des farines atteintes.
6) Diminution du pouvoir de germination des grains de blé attaqués.

L'étendue des dégâts est proportionnelle au nombre des piqûres pratiquées sur les grains. Il semble, en outre, que l'étendue des dégâts soit fonction de la période de maturation à laquelle se trouve l'épi au moment de l'attaque.

Un chercheur expérimenté n'a pas de peine à reconnaître au microscope les piqûres des insectes en question sur les grains de blé. Mais il n'est guère possible de déterminer uniquement à l'aide du microscope si la farine examinée provient de blé attaqué par les Pentatomidae.

Notons encore que l'examen des piqûres au microscope ne donne pas une image suffisamment nette de l'étendue des dégâts.

L'altération des éléments azotés du blé étant proportionnelle au pourcentage et à l'intensité de l'attaque, il s'ensuit qu'en déterminant le degré de l'altération on peut supputer la gravité de l'attaque.

Voici, succinctement décrite, la méthode qu'on a proposée (14) pour déterminer chimiquement l'altération du blé attaqué par les Pentatomidae et de la farine provenant de ce blé.

On commence par convertir en farine 5 g de blé que l'on mélange avec 15 ml. d'eau à 40 °C et l'on maintient la mixture à cette température pendant 15 minutes sans cesser de remuer. Puis on filtre et on prélève dans une éprouvette 2 ml. du produit, auquel on ajoute 10 gouttes de réactif Millon (solution de mercure dans de l'acide nitrique). Le tube est ensuite immergé dans de l'eau bouillante, où on le maintient pendant deux ou trois minutes en remuant sans cesse. Si le liquide se colore en rouge c'est que le blé, d'où provient la farine examinée, à subi l'attaque de l'insecte.

Cette méthode ne fournit point de données quantitatives. C'est simplement une méthode diagnostique. Appliquée par nous à diverses farines de provenance grecque, attaquées ou non par l'insecte, elle n'a

pas donné des résultats satisfaisants, la réaction ayant été positive même pour de la farine dont on était assuré qu'elle n'avait pas subi d'attaque.

Nous nous sommes donc appliqués à mettre en œuvre une méthode simple, aussi rapide que possible, susceptible pourtant de présenter une image de l'attaque éventuelle et de son étendue, en sorte que l'appréciation quantitative de l'altération des substances azotées de la farine permette de dégager parallèlement le pourcentage de l'attaque subie par le blé dont cette farine est extraite.

La méthode que nous proposons s'appuie sur la désagrégation des substances azotées provoquée par les enzymes protéolytiques (6, 10) Le pourcentage et le degré de la désagrégation des molécules des protéines se trouvent en relation directe avec l'étendue de l'attaque.

Sous l'action des enzymes contenus dans la salive des insectes, l'azote des protéides et l'azote aminé diminuent au profit de l'azote ammoniacal et de l'azote amidé qui, à l'aide de solutions d'alcalis caustiques donne de l'ammoniaque qui est ensuite déterminée sous des conditions rigoureusement réglées.

Méthode d'examen.

Voici dans ses détails en quoi consiste la méthode proposée:

Une certaine quantité de blé, préalablement nettoyée de l'ivraie et autres corpuscules étrangers qui s'y trouvent mélangés, est moulue [1] puis tamisée [2].

La farine est ensuite très soigneusement remuée jusqu'à devenir parfaitement homogène. On en retire exactement 6,00 g, que l'on mélange avec 60 ml. d'eau distillée à 15 °C dans un becher de 150 ml. et qu'on remue fréquemment à l'aide d'un agitateur de verre pendant 10 minutes. Enfin on laisse reposer pendant 5 minutes à la même température.

Le produit est ensuite passé sur filtre plissé jusqu'à obtenir un filtrat de 45 ml., la température en étant toujours maintenue à 15 °C.

Sur le filtrat on prélève 35 ml. dans une fiole conique de 300 ml. et l'on y ajoute encore 65 ml. d'eau distillée et 2 ml. de solution NaOH 10%.

---

[1] Moulin modèle Bramden, subdivision 20.

[2] Tamis suisse No 3.

La fiole est ajustée à un réfrigérant vertical portant un ajustage en forme de boule de l'appareil Kjeldahl. Le bout du réfrigérant est relié au moyen d'un bout de tube de caoutchouc avec un morceau de tube de verre effilé qui plonge dans un récipient de 200 ml. contenant 25 ml. de *o,o1 N* HCl.

La fiole est ensuite fortement chauffée pour la distillation, jusqu'à ce que la température du liquide à distiller atteigne approximativement le degré d'ébullition; on réduit alors la température au minimum, de manière que l'ébullition survenant ne provoque pas trop d'écume. Le temps nécessaire jusqu'à l'ébullition est d'environ 5 minutes.

Dès lors la vitesse de distillation est réglée par augmentation et diminution alternées de la flamme, de manière à extraire au total en trente minutes à partir du commencement de l'ébullition 100 ml. de liquide, y compris les 25 ml. de l'acide *o,o1 N*.

Ensuite on arrête de chauffer, on lave le réfrigérant et son extrémité avec quelques ml. d'eau distillée, et l'on mesure l'excédent de l'acide par *o,o1 N* NaOH (avec indicateur le rouge de méthyle). La différence indique les ml. que le liquide distillé à bloqués

On procède ensuite à l'évaluation des cm^3 correspondant à 100 g de farine, exprimés en *o,o1 N* HCl.

Pour simplifier l'exposé ci-après nous désignerons par P ce nombre de ml. *o,o1 N* HCl.

Nous avons eu l'occasion d'éprouver cette méthode sur du froment de la région de Copaïs, récolte 1958, atteinte au cours de cette même année d'une forte attaque de Pentatomidae, allant de 8% à 60%.

Le maximum d'attaque observée sur deux échantillons atteignait 60%.

Les nombres P repérés au moyen de la méthode décrite ci-dessus étaient respectivement de 37 et 35,7.

Deux autres échantillons attaqués à 45% ont marqué respectivement P 34 et 35,2.

Un autre échantillon attaqué à 24% à marqué P 22,15.

Un échantillon attaqué à 8,5% a marqué P 16,8 et un autre, attaqué à 5%, P. 14.

Les blés non attaqués ont marqué des taux P variant entre 8,3 et 10.

Les grains de blé attaqués à 50% furent ensuite séparés en deux groupes: celui des grains attaqués et celui des grains non attaqués, que nous avons examinés séparément.

Le premier groupe (grains attaqués) a donné P 37,7 alors que le deuxième (grains non attaqués) donnait P 15,4.

Il résulte de ce qui précède que même les grains ne présentant pas trace d'attaque à l'extérieur avaient subi de graves altérations par contamination indirecte, en sorte que leur taux P ne correspondait pas à celui de grains parfaitement sains.

Ayant ensuite mélangé du blé non attaqué avec du blé attaqué (50%) à raison de 1 : 3, 1 : 1 et 3 : 1, nous en avons obtenu des taux représentés par la courbe (droite), de la fig. 1.

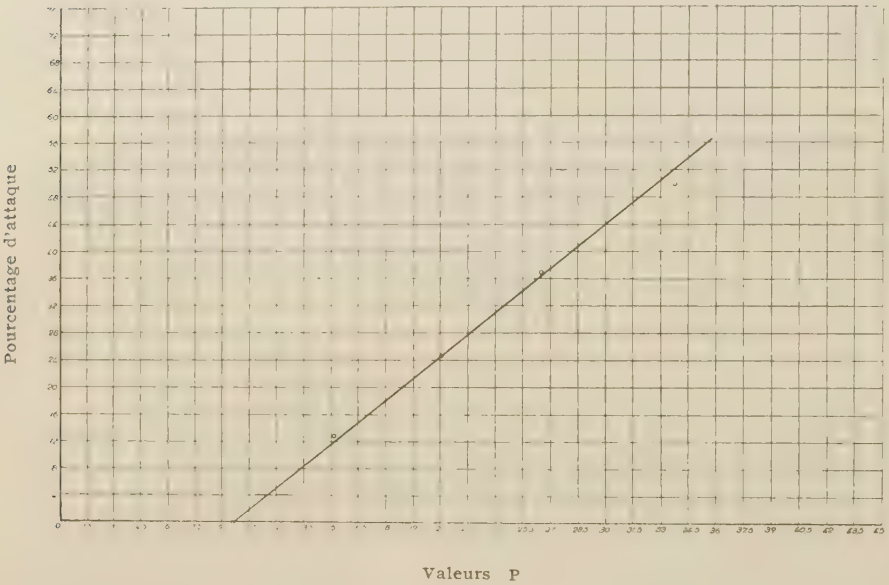


Fig. 1. Graphique des taux P, aprés mélange sous divers proportions d'une farine provenant des grains attaqués avec celle des grains non attaqués.

Outre les échantillons de Copaïs nous avons encore prélevé et examiné du blé provenant des principales régions productrices du pays et dont le pourcentage d'attaque variait de 1 à 24%.

Le tableau I ci-dessous indique les résultats obtenus par la méthode précitée en taux de P et, parallèlement, leur pourcentage d'attaque déterminé par les entomologistes.

Les données fournies par ce tableau degagent très clairement le rapport entre le pourcentage de l' attaque et le nombre P. Toute aug-

TABLEAU I

Montrant le pourcentage de l'attaque du blé par les Pentatomidae et les taux correspondants en nombre P (ml. $o,o1$ N HCl).

No d'ordre	Origine des échantillons de blé examiné	Nombre P.	Pourcentage d'attaque observé au microscope	No d'ordre	Origine des échantillons de blé examiné	Nombre P.	Pourcentage d'attaque observé au microscope
	Région :				**Région :**		
1	Copaïs	37	60	21	Macédoine	13,8	2.5
2	»	35,7	60	22	Calambaca	10,9	2,5
3	»	35 2	50	23	Macédoine	11,7	2,4
4	»	34	45	24	Volo	11.3	2
5	Béotie	22,15	24	25	Macédoine	11,3	2
6	Péloponèse	16 8	8,5	26	Chalcidiki	11	2
7	Thébes	14	5	27	Volo	11,5	2
8	Velestino	13,1	5	28	Kozani	11,7	2
9	Lamia	13,5	5	29	Lamia	10.5	2
10	Salonique	14,6	5	30	Grévéna	10,8	1,9
11	Crète	11,2	4	31	U.S.A.	12,6	1,7
12	Préveza	11,8	4	32	Péloponèse	11,1	1,5
13	Ptolémaïs	12,8	4	33	»	11,2	1,5
14	Drama	12,1	4	34	Drama	11	1
15	Salonique	12,7	4	35	Calambaca	10,4	1
16	Rhodopi	12,6	3,5	36	U.S.A.	7,5	1
17	Pharsala	11,4	3	37	»	10	blé non attaqué
18	Kozani	12,6	2,5	38	Carditsa	10	»
19	Ptolémaïs	10	2,5	39	Corfou	8,3	»
20	Catherine	11,8	2,5				

mentation du pourcentage de l'attaque entraîne une augmentation analogue du nombre P.

Le taux P de blé grec non attaqué oscille entre 8,3 et 10, tandis qu'il atteint 37 pour le blé fortement attaqué et des valeurs proportionnelement moindres pour les blés moins attaqués (fig. 2).

La moyenne d'attaque constatée par rapport à la moyenne correspondante des taux P figure au tableau II.

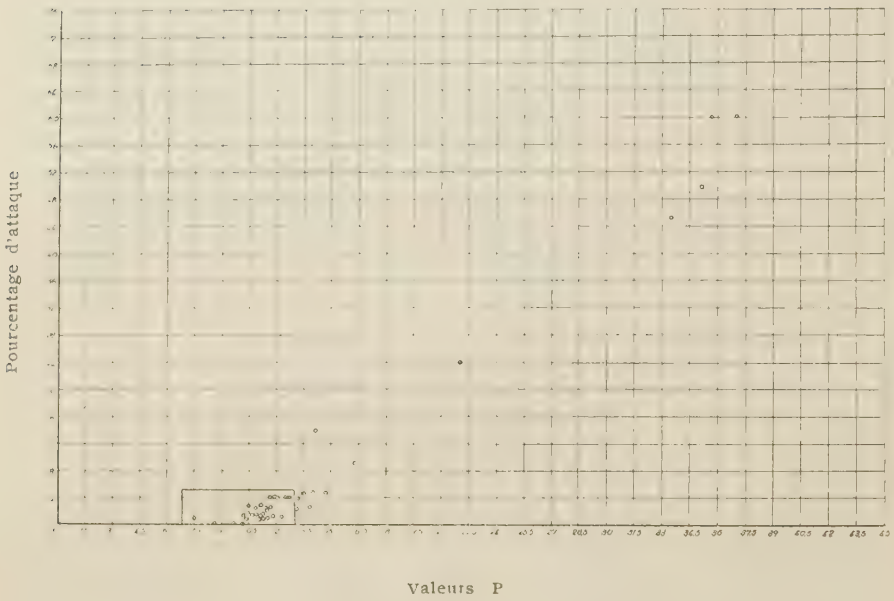


Fig. 2. Graphique de relation entre les taux P et le pourcentage d'attaque vérifié sur les grains infectés par les Pentatomides.

TABLEAU II

Montrant les taux P correspondant aux pourcentage d'attaque.

Moyenne d'attaque en pourcentage	Moyenne correspondante des taux P
60	36.5
50	35,2
45	34
24	22,15
8,5	16
5	13,8
4	12
2,5	11,8
2	11.2
1,5	11,1
1	10,7
Blé non attaqué	8,3 - 10

Étant donné que l'étendue des dégâts causés au blé dépend de la population des insectes, de la saison et de l'état de la végetation, les taux P enregistrés retracent l'image non seulement de l'ampleur de l'attaque mais encore celle des dégâts qu'elle a occasionnés.

C'est pourquoi, pour un seul et même pourcentage d'attaque constatée au microscope, les nombres P présentent entre leur maximum et leur minimum des écarts restreints mais qui, néanmoins, suffisent pour indiquer la différence de l'étendue des dégâts que les facteurs précités ont causés au blé.

Comme on l'a dit un peu plus haut, les enzymes protéolytiques introduits dans le blé avec la salive des insectes, provoquent la désagrégation des molécules des protéines à un degré qui dépend des différents facteurs (température, durée, stade de maturation etc.). Cette désagrégation des molécules des protéines a pour effet, entre autres, de transformer la solubilité des substances azotées dans l' eau.

TABLEAU III

Montrant en mg les quantités d'azote soluble dans l'eau, en comparaison avec les nombres P correspondants et avec les pourcentages d'attaque du blé par les Pentatomidae.

No d'ordre	Origine des échantillons de blé examiné	Nombre P	Pourcentage en mg d'azote soluble dans l'eau	Pourcentage d'attaque	No d'ordre	Origine des échantillons de blé examiné	Nombre P	Pourcentage en mg d'azote soluble dans l'eau	Pourcentage d'attaque
	Région					**Région**			
1	Copaïs	37	672	60	12	Volo	11,3	280	2
2	»	35,7	656	60	13	Macédoine	11,3	252	2
3	»	35,2	581	50	14	Volo	11,5	255	2
4	»	34	574	45	15	Lamia	10,5	255	2
5	Béotie	22,15	464	25	16	Grévena	10,8	252	1,9
6	Thèbes	14	308	5	17	Péloponèse	11,1	266	1,5
7	Salonique	14,6	322	5	18	Drama	11	266	1
8	Crète	11,2	336	4	19	Calambaca	10,4	252	1
9	Préveza	11,8	270	4	20	U.S.A.	10	264	blé non attaqué
10	Ptolemaïs	12,8	336	4	21	Carditsa	10	260	»
11	Drama	12,1	300	4	22	Corfou	8,3	250	»

Plus la désagrégation des protéines avance, plus s'accentue généralement leur solubilité dans l'eau.

Il s'ensuit que, à conditions de prélèvements égales, la quantité d'azote organique contenue dans les prepations aqueuses des farines est de beaucoup supérieure dans celles qui proviennent de blé attaqué que dans celles qui proviennet de blé indemne.

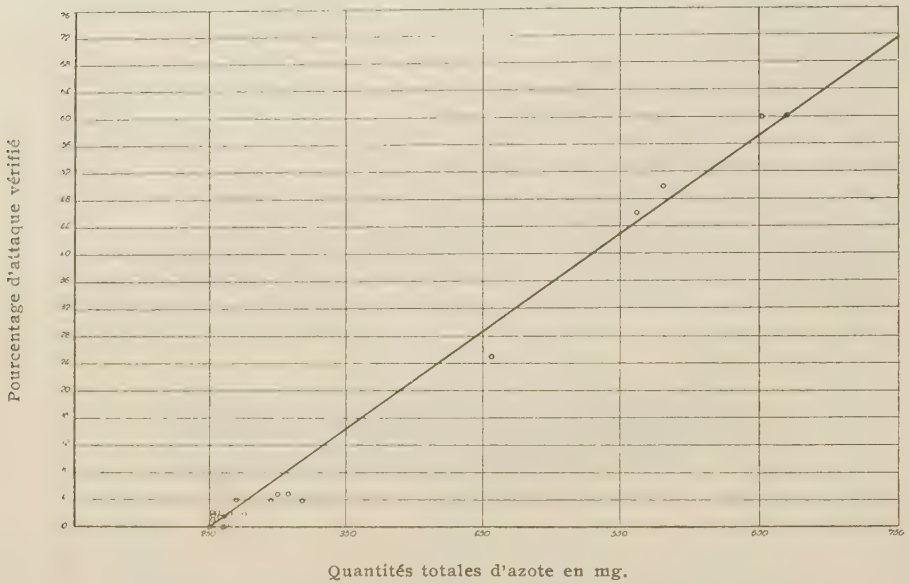


Fig. 3. Graphique de relation entre les quantités totales d'azote soluble dans l'eau et le pourcentage d'attaque par les Pentatomides.

La différence en quantité totale d'azote soluble dans l'eau, observée entre blés attaqués et blés non attaqués, peut servir de mesure pour l'évaluation des dégâts produits par l'attaque.

Conformément à la méthode décrite de traitement de la farine pour la détermination de la valeur P, on prend 45 ml. de liquide filtré, dont les 35 ml. sont utilisés pour déterminer ledit taux et les dix autres, correspondant à 1 g de substance, servent à déterminer la quantité totale d' azote soluble dans l'eau, selon Kjeldahl.

Le tableau III indique en mg les taux d'azote soluble dans l'eau, avec, en regard, les taux P et les pourcentages d'attaque vérifiés au microscope.

Il ressort des données consignées dans ce tableau que les fa-

rines attaquées à 60% contiennent 672 mg % d' azote soluble dans l'eau, alors que pour les farines non attaquées ce pourcentage se diminue à 255 mg. La différence entre ces deux taux est considérable et confirme nettement l'hypothèse posée à priori, à savoir qu'à mesure de la désagrégation des protéines s'accentue la solubilité des substances azotées du blé dans l'eau.

Quand il s'agit d'attaques plus faibles, on a des taux intermédiaires de pourcentages d'azote soluble, lesquels décroissent parallèlement et d' une manière presque analogue, les mêmes conditions étant strictement tenues, par rapport aux nombres P et aux pourcentages d'attaque correspondants.

Dans le graphique de la fig. 3 nous avons porté sur l'ordonnée le pourcentage d'attaque vérifié et sur l'abscisse les quantitéstota les d'azote soluble dans l'eau en mg.

Si l'on trace une ligne droite entre le point non attaqué et celui de la plus forte attaque, on odservera avec beaucoup de précision l'échelonnement des taux et les déviations dues aux motifs que nous venons d'exposer.

Il s'ensuit que le pourcentage d'azote soluble dans l'eau peut servir de mesure pour apprécier l'altération de la farine, ainsi que de moyen pour vérifier le taux P, qui détermine l'évaluation du pourcentage des dégâts.

CONCLUSION

La méthode que nous proposons pour déterminer le taux P de la farine permet de vérifier si celle-ci est endommagée par une attaque de Pentatomidae et, dans l'affirmative, d'évaluer l'étendue de l'attaque.

A un taux P 11, au maximum, le blé et la farine qui en provient sont parfaitement sains.

A un taux P variant entre 11 et 12,5 le blé et sa farine révèlent une très faible attaque (1-2%) et a un taux entre 12,5 et 14 une attaque de 2 à 5%.

A des taux dépassant 14, les pourcentages d'attaque s'échelonnent entre 5 et 60.

En outre, le pourcentage en mg d'azote soluble dans l'eau, vérifié dans les susdites conditions, établit une distinction très nette entre les blés sains et les blés attaqués, selon une indication échelonnée, parallèle au taux P dont elle apporte la confirmation.

Nous adressons, ici aussi, nos remerciements les plus vifs à monsieur C. Pélékassis sous directeur de la section d' entomologie et de zoologie agricoles à l'Institut Phytopathologique Benaki, ainsi qu'à ses collaborateurs M. P. Mourikis et Mlles E., Pavlopoulou, L. Argyriou et P. Alexopoulou pour leur contribution à tout ce qui concerne le côté entomologique de ce travail.

BIBLIOGRAPHIE

1. Bonnemaison L., 1952.—Morphologie et biologie de la punaise ornée du chou. *Ann. Épiphyt.*, **3**, 127-272.
2. Geoffroy B, 1936. — Étude des blés punaisés Nord-africains et français. *Bull. École Franc. Meunerie*, No 51, 205-207.
3. Hites B. D., Sandstedt R. M. καὶ Schaumburg L., 1951. — Study of proteolytic activity in Wheat flour doughs and suspensions. II. A papain inhibitor in flour. *Cereal chem.*, **28**, 1-18.
4. Issaakidis C., 1941.— Les insectes intéressant l'agriculture grecque et quelques observations à leur sujet. Actes de l'Académie d'Athènes p. 238.
5. Kranz W., 1944. — Biochemistry of the damage to grain by the wheat bug. *Cereal chem.*, **21**, 1-16.
6. Kranz W., Bundel A. A. and Pschenova K. V., 1943. — Mecanism of wheat Injury by Eurygaster Intergriceps. *Compt. rend. Acad. Sci.* U.R.S.S., **39** (n. ser.): 31-33.
7. Kranz W. and Tokareva R.R. (1938, 1939) — Biochemische Veränderungen in dem durch die schildwänze veränderten Weizenkorn. *Biochimie* **3**, 387-396. **4**, 636-674.
8. Leob J., 1936. — Contribution à l'étude des qualités des blés de récolte de 1935. Brochure 49 pp. Troyes, Y. L. Paton edit.
9. Maruchev A. I. and Grivanou K. P., 1938. — The effect in the injuries caused by Eurygaster intergriceps Fut. on the baking properties of Wheat. *Social Grain Fmg.*, 187-191, (εἰς R.A.E., **27**, 554, 1939).
10. Meneret G., 1936. — Influence des piqûres des punaises sur la qualité des blés. *Bull. École franç. Meunerie*, No 51, 190-195.
11. Nuorteva P., 1956. — Studies on the effect on the salivary secretions of some Heteroptera and Homoptera on plant growth. *Suom. Hyönt. Aikaus* (*Ann. Ent. Fenn.*) **22**, 108-117.
12. Nuorteva P., 1956. — The possibility of distinguishing the symptoms of injury to Wheat Kernels made by different heteropterous bugs. *Suom. Hyönt. Aikaus* (*Ann. Ent. Fenn.*) **22**, 120-121.
13. Pelekassis D. E., 1951.— Notes entomologiques. *Ann. Inst. Phytopath. Benaki*, Fasc. 1, Ann. 5.
14. Tokareva R. R., 1940. — A new method for determining whether grain has been attacked by Pentatomids. — *Müllerei u. Elevatorwirtsche*, No 10, pp. 9-10.

Ann. Inst. Phytopath. Benaki, N.S., 3: 113-116, 1960.

ROOT AND CROWN ROT OF ALFALFA DUE TO NON PARASITIC CAUSES[1]

by

D. G. ZACHOS and C. G. PANAGOPOULOS

During the summer of 1958, the authors had the opportunity to examine the case of a root rot of alfalfa which had been observed in the region of Sperchias and Klonion, in the District of Phthiotis, where this plant is cultivated for seed production.

The disease appeared in the second fortnight of May on almost the entire area of 250 stremmas* sown in these localities. The percentage of affected plants amounted to 20-40; some of the fields, however, were completely destroyed.

The following symptoms were observed :

In the field, the disease appears in the form of patches being more intense on those fields or parts of them retaining excessive humidity. A general chlorosis is noted on the diseased plants which, either present a stunting, or wilt and finaly dry.

When removed from the soil, both the tap root and the rootlets are found to be destroyed on account of a dry rot. The decay starts from the lowest extremity of the root and proceeds upwards, sometimes to the crown (Fig. 1).

At the beginning, the affected part has a yellow-green colour which later changes to brown or, sometimes to black. In a longitudinal section of the root, the affected part is differentiated from the healthy one by a black-brown zone. Beyond the affected part, stripes of discolored tissues having the same colour as above, are also observed (Fig. 2).

[1] Received for publication: October 10, 1960.

* One stremma is 1000 m^2.

In searching for the causal agent we carried out many isolations from a great number of plants. These isolations produced various species of the genus *Fusarium* and the fungus *Neocosmospora vasinfecta*. Nevertheless, in many tubes the inoculum did not produce any parasite.

The attack of alfalfa by species of the genus *Fusarium* has been reported by many workers. Weimer (15) makes a review of the relative literature and describes a vascular disease caused by the fungus *F. oxysporum* var. *medicaginis*. He further proves its pathogenicity, at least as far as the young plants are concerned. Cormack (2) and Hawn and Cormack (9) report the species *F. avenaceum*, *F. acuminatum*, *F. arthrosporioides* and *F. culmorum* as causing root rot of alfalfa and clover, while they consider *F. poae* and *F. scirpi* as weak parasites. The pathogenicity of *F. solani* has been ascertained by Staten and Leyendecker (14). However, working on the crown rot of alfalfa, Erwin (3) could not demonstrate the pathogenicity of those species of *Fusarium* he had isolated and therefore he considered them as weak parasites. Kilpatrick *et al* (11) and Hanson (8) are also of the same opinion as regards the root rots of the clover.

The ability of the fungus *Neocosmospora vasinfecta* to attack the alfalfa should also be deemed as questionable.

Alfalfa plants of different ages belonging to the variety affected, developed both in flower pots and in the soil, were repeatedly artificially inoculated in order to determine the pathogenicity of the species *Fusarium* and *Neocosmospora*, isolated as above. These inoculations were carried out in different seasons while various methods were applied. However, under no circumstances we were able to reproduce the disease.

The same disease was identified anew in many fields when we visited the above regions, as well as those of Makrakomi and Zilephto in the same District, in June 1959. New isolations also produced species of the genus *Fusarium*; in very few tubes the fungus *Alternaria* was found, while in more than half of the tubes used no parasite developed.

As the reproduction of the disease by means of the isolated parasites has failed and the great number of sterile tubes has proven the absence of any pathogen in most of the affected plants, and since the presence of any known virus or bacteriological disease of those already described is to be excluded and no animal parasite has been detected in the roots, one is led to the assumption of a non parasitic

Fig. 1. Alfalfa plants showing root rot and crown rot due to the flooding of the fields with irrigation water.

Fig. 2. Longitudinal section of the above alfalfa plants showing discoloration of the inner tissues of the crown and the root.

disease. The following reasons, besides the ones set forth above, may support such an assumption:

1. The attack occurs a few days following irrigation. This was typically observed on a field which was totally affected four to five days after irrigation while all the adjacent fields remained unaffected.

2. The disease is more severe in clayey soils, particularly in the lower parts of the fields which retain excessive humidity.

In view of the above, we may assume that the disease in question is due to an extended flooding of the fields with the irrigation water. Into the plants thus injured different species of the isolated fungi enter, according to the soil microflora, which act as weak parasites.

Similar injuries attributed to the same cause have been reported for other plants too (1, 10, 12, 13).

Symptoms identical to those described hereinabove were observed by Erwin in a disease of unknown cause which appeared in California some years ago on alfalfa (3, 4). Later experiments which he conducted with his collaborators (5, 6, 7) showed that this was due to a flooding of the fields with water, particularly under the high temperatures prevailing in summer, and hence, the term «flooding injury» was assigned to the disease. They also found that the injury is more severe when the flooding period is longer and the temperature higher, and also in those cases where flooding occurs in fields shortly after the clipping of the plants.

In our case, the fields were irrigated soon after the clipping and during a season of comparatively high temperatures.

LITERATURE CITED

1. Bolton J. L. and McKenzie R. E., 1946. — The effect of early spring flooding on certain forage crops. *Scientific Agric.* **26**: 99 105.

2. Cormack M. W., 1937. — Fusarium spp. root parasites on alfalfa and sweet clover in Alberta. *Can. Jour. Res.* **15**: 493-510.

3. Erwin D. C., 1954. — Relation of Stagonospora, Rhizoctonia and associated fungi to crown rot of alfalfa. *Phytopath.* **44**: 137-144.

4. Erwin D. C., 1955. — Crown and root rot of alfalfa. *Calif. Agric.* **9**: 11-12.

5. Erwin D. C. and Kennedy B. W., 1957. — A root collapse of alfalfa associated with the interaction of high soil temperatures and water-saturated soil. *Phytopath.* (Abstr.) **47**: 10.

6. Erwin D. C., Kennedy B. W. and Lehman W. F., 1959. — Xylem necrosis and root rot of alfalfa associated with excessive irrigation and high temperatures. *Phytopath.* **49**: 572-578.

7. Erwin D. C. and Lehman W. F., 1958.— Effects of temperature, length of the flooding period and stage of plant growth on flooding injury to alfalfa. *Phytopath.* (Abstr.) **48**: 392.

8. Hanson E. W., 1959. — Relative susceptibility of seven varieties of red clover to diseases common in Wisconsin. *Plant Dis. Reptr*, **43**: 782-786.

9. Hawn E. J. and Cormack M. W., 1952. — Crown bud rot of alfalfa. *Phytopath.*, **42**: 510-511.

10. Jackson W. T., 1956. — The relative importance of factors causing injury to shoots of flooded tomato plants. *Amer. Jour. Bot.*, **43**: 637-639.

11. Kilpatrick R. A., Hanson E. W. and Dickson J. G., 1954.— Root and crown rots of red clover in Wisconsin and the relative prevalence of associated fungi. *Phytopath.*, **44**: 252-259.

12. Kramer P.J., 1951. — Causes of injury to plants resulting from flooding of the soil. *Plant Physiol.* **26**: 722-736.

13. Kramer P. J. and Jackson W. T., 1954.— Causes of injury to flooded tobacco plants. *Plant. Physiol.* **29**: 241-245.

14. Staten G. and Leyendecker P. J., 1949.— A root rot disease of alfalfa caused by Fusarium solani. *Plant Dis. Reptr*, **33**: 254-255.

15. Weimer J. L., 1928. — A wilt of alfalfa caused by Fusarium oxysporum var. medicaginis, n. var *Jour. Agric. Res.*, **37**: 419-433.

Ann. Inst. Phytopath. Benaki, N.S., 3 : 117-118, 1960.

PREMIÈRES OBSERVATIONS SUR UNE MALADIE CHRONIQUE DE LA VIGNE

Par

D. G. ZACHOS

Au printemps 1960 nous avons eu l'occasion d'examiner une maladie chronique de la vigne, qui n'avait pas été décrite jusqu' à présent en Grèce.

Il s'agit d'une maladie endémique dans la région du village de Kynigos, en Pylie, où le Raisin de Corinthe est cultivé sur une étendue de 4000 stremmes*, approximativement.

La maladie, signalée depuis plusieurs années, a frappé environ 700 stremmes de vignes, sous forme de taches. Elle présente le fasciès suivant :

Au printemps, les bras de ceps attaqués ne poussent pas tous, mais seulement quelques-uns. On a pu observer certains pieds gravement atteints, où sur dix bras deux seuls avaient poussé. En général sauf certains bras qui se développent normalement et d'autres qui ne poussent point, le reste présente une végétation cachectique, à court entre noeuds et à petites feuilles. En coupe transversale du tronc et des branches, les vaisseaux du bois offrent une décoloration très nette en cercles concentriques jusqu'à l'écorce (Fig. 1). La décoloration varie du brun clair ou du brun rosé au brun ou au brun foncé. Cette décoloration du bois va croissant de la périphérie vers le centre, en sorte que souvent on peut observer autour de la moelle une bande large de plus d'un centimètre. En coupe longitudinale, cette même succession de teintes se présente sous forme de stries longitudinales, de la couleur précitée (Fig. 1). Si on enlève l'écorce, on observe sur le bois des rameaux ou du tronc les mêmes décolorations en zones larges de plusieurs centimètres et très longues. L'affaiblissement du cep a pour effet de réduire considérablement la production. Le système radical se développe insuffisamment et, dans l'espace de quelques années à compter de la manifestation du mal, le cep se dessèche.

* Un stremma=1000 m^2

Des tissus alterés du bois nous avons isolé à plusieurs reprises un champignon, dont la culture présente les traits caractéristiques suivants : au début elle est blanche et légèrement visqueuse, semblable à une colonie de bactéries. Plus tard elle se colore dans son centre en vert clair, puis en vert foncé. Au 18e jour elle a une diamètre de 1,5 cm., elle est ronde, humide, extrêmement plissée, entourée d'une frange blanchâtre et présente une surface irrégulière. Un mois après, elle tourne au gris-vert. Le champignon ainsi isolé s'est trouvé appartenir au genre *Cephalosporium* Corda.

Avec le parasite isolé on a inoculé artificiellement des sarments de variétés diverses, ainsi que des rameaux de 2,3 et 4 ans, en introduisant une petite quantité de mycélium et de spores dans des trous pratiqués à l'aide d'une aiguille stérilisée.

Installé dans le bois d'un sarment, contaminé le 24 mai, le champignon avança, dans l'espace d'environ quatre mois et sous forme d'une strie brune, à une distance de 20 cm. au-dessus et de 15 cm. au-dessous du point d'inoculation. Le champignon fut de nouveau isolé à ce niveau et les coupes pratiquées à cet effet révelèrent au microscope l'existence de mycélium dans les vaisseaux du bois. Dans cinq autres sarments, parmi lesquels l'un appartenant à une vigne américaine, le champignon avança de la même manière et, dans l'espace d'un mois et demi, il se trouvait à des distances de 5 à 10 cm. du point d'inoculation.

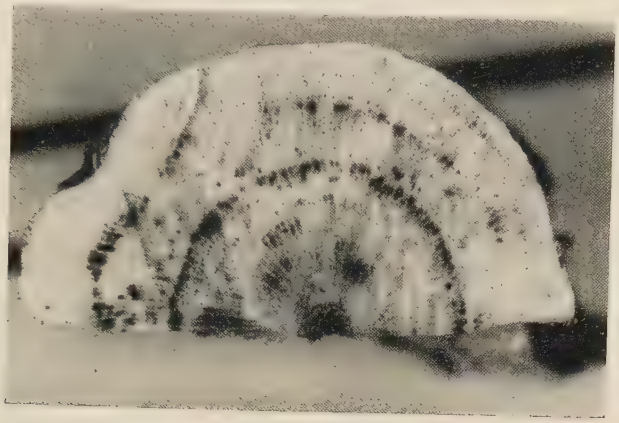
En édudiant l'Esca de la vigne, Chiarappa (1) a isolé une spèce du genre *Cephalosporium,* qui s'est avérée pathogène. Petri (2) aussi, en étudiant les altérations du bois bien des années auparavant, avait isolé deux espèces du même champignon avec lequels il avait inoculé des sarments et obtenu les mêmes décolorations. De la description donnée l'un de deux espèces ressemble à notre champignon.

Bien que les résultats des inoculations artificielles prouvent la nature pathogène du parasite, nous nous garderons d'imputer la maladie audit champignon avant de connaître le résultat des inoculations pratiquées sur des sarments et sur des bras plus âgés et avant que l'étude en cours de la maladie ne s'achève.

BIBLIOGRAPHIE

1. Chiarappa L., 1959. – Wood decay of the grapevine and its relationship with black measles disease. *Phytopath.*, **49** : 510-519.

2. Petri L., 1912. — Osservazioni sopra le alterazioni del legno della vite in seguito a ferite. *Staz. Sper. Agr. Ital.* **45** : 501-547.



A

B

Fig. 1. Tronc d'une vigne montrant la décoloration brune des vaisseaux du bois. A, coupe transversale. B, coupe longitudinale.

Ann. Inst. Phytopath. Benaki, N.S., 3 : 119-129, 1960.

BORON DEFICIENCY IN OLIVE GROVES OF LESBOS ISLAND [1, 2]

by

S. D. DÉMÉTRIADÈS, N. A. GAVALAS and C. D. HOLEVAS

Early in 1960 we had the opportunity to observe on olive trees in Lesbos island, certain symptoms similar to those commonly attributed to mineral deficiencies.

After a closer study of the disease, which was rather widespread on the island, it was proved that the cause was boron deficiency. It should be noted that boron deficiency in olive is for the first time reported from Greece.

Boron deficiency in olive has been described in California by Scott et al. (1943) and in Italy by Ciferri et al. (1955, 1956a, 1956b) and Rui et al. (1957). As far as we know, no definite reports of the disease have been given from other olive-growing countries.

To the growers of Lesbos the symptoms of this deficiency were common for many years ago but they were attributed to unfavorable environmental conditions, such as low winter temperatures, soil waterlogging etc.

A survey of the island showed that boron deficiency appears quite severe in certain districts. Presumably, it may also exist in other districts which have not been surveyed yet, or even it may be present in a mild form without any conspicuous symptoms.

In Lesbos, olive groves are very extended. The total number of olive trees is estimated to nearly 8.000.000. Thus the deficiency ob-

[1] Received, November 12, 1960.

[2] This work has been financially supported by The Royal Hellenic Research Foundation and the Ministry of Agriculture within the program of research on olive pests and diseases.

served is very important for Lesbos, causing presumably a considerable reduction in olive crop and consequently in the total agricultural income of the island.

Districts of the island, where boron deficiency has been identified

As shown in Fig. 1, boron deficiency in olive has been identified in the following areas of Lesbos island

Fig. 1. Localities of Lesbos island where boron deficiency in olive has been found 1 = Kourou-Tsesmé, Stypsi. 2 = Karyni area of Agiassos. 3 = Koukos, Kalloni. 4 = Simanterellia and Halikas Stefani, Yera. 5 = Pefkara, Yera. 6 = Messagros area, Yera. 7 = Lafiona area. 8 = Mithymna area. 9 = Stinochonia, Moria. 10 = Klima, Aghia Paraskevi.

a) Kourou-Tsesmé locality of the village of Stypsi
b) Karyni area of Agiassos
c) Yera district, near the villages of Palaeokipos, Papados, Scopelos and Messagros
d) Koukos locality of Kalloni

e) Mithymna district
f) Lafiona district
g) Moria district
h) Klima locality of Aghia Paraskevi

SYMPTOMS

The following symptoms are described as they appeared on trees of Kourou-Tsesmé locality where the deficiency was found to be in its more acute form. Variations in the appearance of the symptoms have been observed in certain other localities of the island. These variations are given at the end of this chapter.

Appearance of the trees

Diseased olive trees could be distinguished by their chlorotic appearance and the many dead twigs, scattered all over their foliage (Fig. 2 and 3).

On the dead twigs, excessive «forked» branching and formation of «brooms» were common (Fig. 4). A number of the diseased twigs showed also short internodes.

The chlorotic appearance of the trees, while hardly noticeable during the summer, became distinctly pronounced in winter and early spring.

Leaves

Early in July, a very faint chlorosis could be observed on the young leaves. At first, only a small apical portion of the leaf blade became lighter in colour. This chlorosis extended slowly towards the leaf base which, however, retained its normal green colour. The rest of the blade became successively clearly chlorotic, pure yellow and finally, on certain leaves, orange-yellow or orange. The extent of the discolouration on leaf blade differed according to the season and the position of the leaf on the shoot. Usually, it occupied the 1/3 to 2/3 of the blade (Fig. 5 and 6).

During the first stages of chlorosis, there was a gradual transition between normal and chlorotic area. Later on, as the yellow colour was pronounced, a clearly cut border line of variable shape appeared, delimiting the two areas of the blade (Fig. 5).

The tips of some affected leaves dried out and turned light brown in colour. In this case the orange colour was more pronounced at the area just under the withered tip.

The discoloured leaves were commonly smaller than normal, or even very small and malformed. Usually the malformation consisted in a broadening of the apical portion, the leaf becoming clavate (Fig. 5 and 10). Affected leaves were thicker than normal, somewhat stiff and lacking their usual luster.

The above described symptoms appeared to be more intense on the upper part of the year's shoots whereas the leaves closer to the base might not show symptoms of the disorder (Fig. 7).

Leaf shedding was heavy during autumn and winter. The defoliation started from the tips of the young shoots which, later on, died back.

Annual growth

In spring, shooting was retarded on severely affected trees. Early in May of 1960 growth was just starting on the affected trees, whereas on healthy ones, new shoots had a length of 5 cm at least. Besides, growth was not uniform in appearance and length.

Some shoots showing leaf symptoms attained a normal length (Fig. 7). On others the growth of the apical bud was inhibited and the next lower buds started growing. In this case «forked» branching developped and the shoots could attain normal length and internodes or their growth could be restricted. On certain shoots short-internodes were observed (Fig. 8). These shoots finally died-back.

Dying back of the twigs was followed by the development of many water sprouts on the main branches.

Branches

Cracks, protuberances and other similar symptoms reported by Scott et al. (1943) and Ciferri et al. (1955), or any other abnormalities have not been observed on the surface of the branches. In the bark, however, there have been found brown necrotic spots 1-5 mm. in diameter or even larger (Fig. 9). These spots merged to form more extended necrotic patches irregular in shape. This necrosis did not extend to the wood. Similar necrotic spots have been observed, al-

Fig. 2. Withered top-twigs of an olive tree severely affected by boron deficiency. (Kourou-Tsesme locality of Stypsi).

Fig. 3. Same as in Fig. 2.

Fig. 4. « Broom » formation on an olive branch. A symptom of boron deficiency. (Kourou-Tsesme locality of Stypsi).

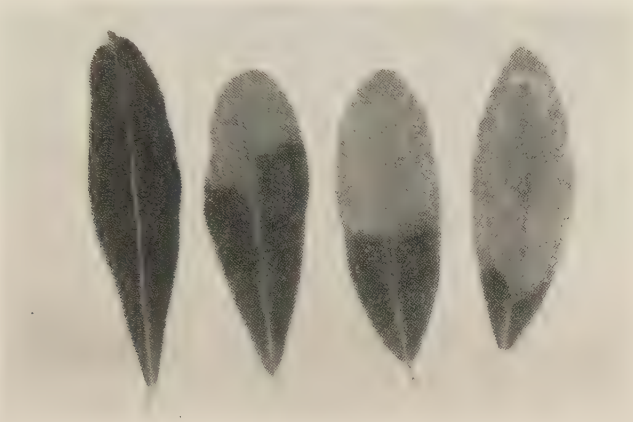


Fig. 5. Boron deficiency symptoms on olive leaves. Successive stages of chlorosis starting from the apex. (Karyni area of Agiassos).

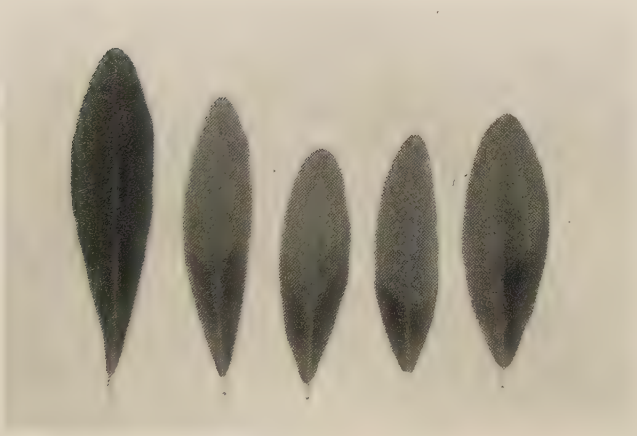


Fig. 6. Same as in Fig. 5.
(Kourou-Tsesme locality of Stypsi).

Fig. 7. Olive shoot showing boron deficiency symptoms on the upper leaves. (Karyni area of Agiassos).

Fig. 8. Olive shoots with extremely short internodes, caused by boron deficiency. (Kourou-Tsesme locality of Stypsi).

Fig. 9. Necrotic spots in the bark of a branch of an olive tree affected by boron deficiency.

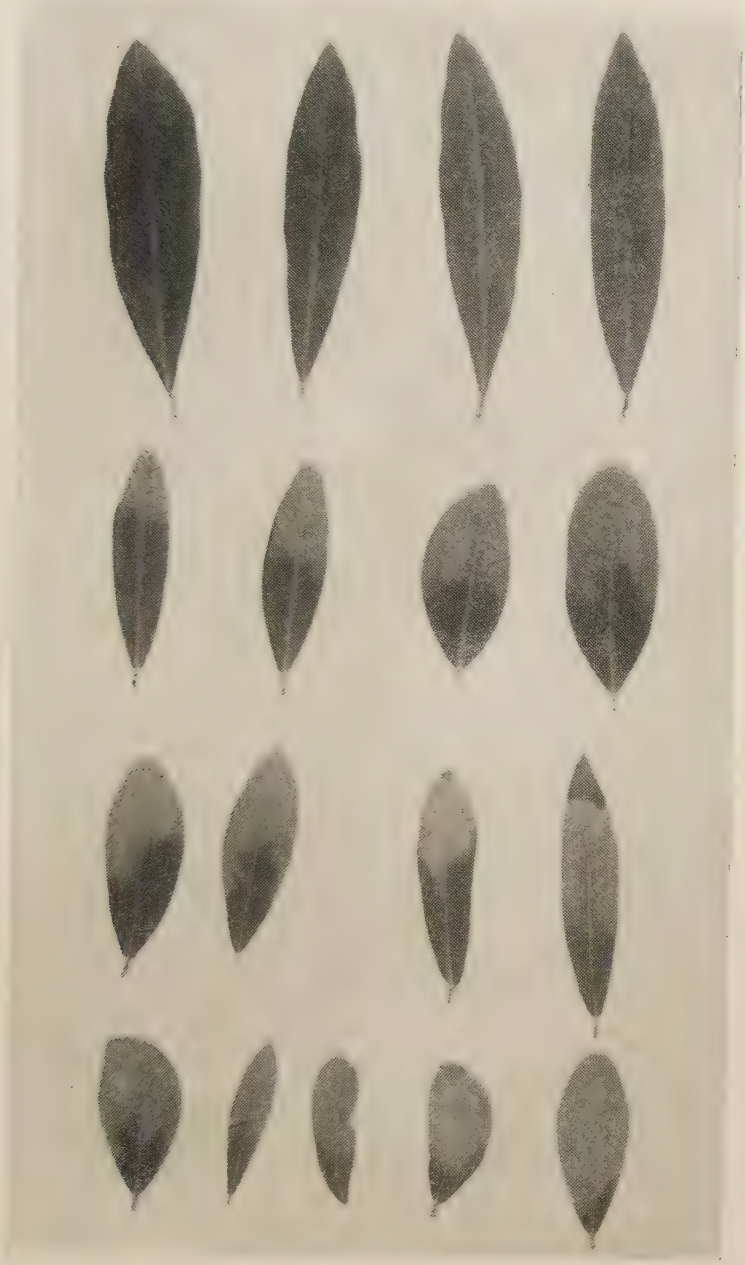


Fig. 10. Olive leaves showing boron deficiency symptoms : Chlorosis, little leaves, clavate and otherwise malformed leaves and tip withering. In the upper row normal leaves. (Koukos locality of Kalloni).

though not so abundant, in the bark of apparently healthy trees. These trees had a low boron content in their leaves. However, necrotic spots appeared also in certain cases, in the bark of trees having a normal boron level. These trees had a number of dead twigs, which could be attributed to other causes. For these reasons we cannot be sure whether or not the appearance of necrotic spots in the bark of large branches is closely related to boron deficiency.

Sudden dying of large branches with their leaves persisting on them has not been noted.

Crop production

According to the information available, affected trees in the Kourou-Tsesmé locality have not given a crop for a large number of years.

Fruits

On the few fruits found on affected trees there have not been observed any morphological disorders as those described by Scott et al. (1943).

*

In the other localities of the island, where the deficiency exists, the following variations from the disease pattern already described were noticed.

Karyni area and Yera district (Palaeokipos, Papados, Scopelos villages).

On the above areas, dead twigs were not common. It is probable, however, that such twigs had been pruned out for pruning of olive trees is a common practice in Lesbos island. The olive grove in Kourou-Tsesmé was an exception as it was completely abandoned because of total unfruitfulness.

Leaf symptoms were similar to those previously described. Withering of the leaf tips, however, was not observed.

In Karyni area, leaf symptoms appeared not in July but in October.

Short internodes on the shoots were also not observed.

In the districts under discussion the trees bear a crop. Crop reduction, however, caused by the deficiency has not been estimated yet.

Kalloni, Mithymna, Lafiona, Messagros, and Aghia Paraskevi areas.

In these districts the deficiency was identified on shoot and leaf specimens sent to the laboratory. Unfortunately, it was not possible to visit those districts and gain a clear picture of the disease.

Leaves from Koukos (Kalloni) and Messagros showed more clearly the orange discolouration and were extremely malformed and small (Fig. 10). From Aghia Paraskevi two leaf specimens wer esent to the laboratory the one taken from the locally cultivated variety of olive and the other from the wild olive rootstock. Symptoms of the deficiency were evident on both specimens.

Finally, it should be noted that on the affected olive trees of Mithymna and Lafiona districts, symptoms appeared as early as June.

DIAGNOSIS

In the case of the affected grove in Kourou-Tsesmé locality, the existence at the same time of many characteristic symptoms (dead twigs, necrotic spots in the bark, chlorosis of the apex of the leaf with the appearance of the orange-yellow discolouration and necrotic tips) enabled the identification of the disease as boron deficiency.

In other cases, however, as in Karyni and Yera, where the only symptom observed was a chlorosis of the apical portion of the leaf, the diagnosis was not as simple because similar symptoms have been described in calcium and magnesium deficiencies (Haas 1945, Hartmann and Brown 1953, Noro 1957).

On the other hand, we had the opportunity to observe in certain localities of the island leaf symptoms identical to those already described which as it has been proved were not caused by boron deficiency (Démétriadès, Holevas and Gavalas 1960).

Thus, to complete the diagnosis we determined the boron content of leaf samples from different localities of the island.

Leaf analysis

The quinalizarine method as modified by McDougall and Biggs (1952) was employed to determine the boron content of leaves. The results of analysis are given in Table I.

From the figures given in Table I it can be seen that, in the cases under examination and by the method used, the boron content of leaves showing symptoms is always below 14 p.p.m. (in dry matter).

According to Hansen (1945) boron content of leaves from trees showing acute boron deficiency symptoms varies between 7 and 13 p.p.m. On cases of mild deficiency, in which symptoms may or may not occur, boron content was 14-15 p.p.m. These trees responded positively to boron applications. When boron content was 16-18 p.p.m. the response to boron applications was not always positive. Finally in healthy trees boron content was 19-33 p.p.m.

Our results, as can be seen in Table I, are in accordance with those of Hansen in spite of the different analytical method used.

It should be noted that the figures given in Table I concern mainly leaves collected early in spring and taken from the middle portion of the previous year's shoots.

Boron applications

As mentioned above, the symptoms observed at first strongly indicated boron deficiency. Leaf analysis showed that in affected trees the boron content was low. However, the response of the trees to boron applications should also be investigated.

Boron was applied on the 28th April and 11th May 1960 in a number of trees of Karyni and Kourou-Tsesmé respectively by the following methods.

a/ By foliar sprays of commercial borax solutions in concentrations of 6‰ in Karyni and 8‰ (w/v) in Kourou-Tsesmé locality. Ten liters of solution per tree were used *.

b/ By addition of borax in the soil at a rate of 500 gr. per tree. Borax was evenly distributed by hand in a furrow around the trunk at a distance depending on the size of the tree. Soil applications were tried only in Kourou-Tsesmé locality and followed by two irrigations, the one given immediately after boron application and the second seven days later. A total of approximately 250 liters of water was given per tree.

c/ By injecting 0.5 gr. of boric acid in a hole, 8 mm in diameter, bored at the base of a main branch. This treatment was not applied

* To the spray solution 1 ‰ (v/v) Adhäsit spreader was added.

TABLE I

Boron content of olive leaves in relation to the appearance of boron deficiency symptoms. Samples collected from areas of Lesbos island.

No	Location	Date of collection	Condition of tree	Symptoms on collected leaves *	Boron p.p m. in dry matter
	A. Stypsi area				
1	Kourou-Tsesmé	28-4-60	Affected tree	Leaves with symptoms	7.5
2	» »	»	» »	» » »	9.0
3	» »	»	» »	» » »	9.5
4	» »	»	Affected trees (sample taken from many trees)	» » »	7.5
	B. Agiassos area				
5	Karyni	23-3-60	Affected tree	» » »	8.5
6	»	»	» »	» » »	11.0
7	»	»	» »	» » »	7.5
8	»	28-4-60	» »	» » »	6.0
9	»	»	» »	» » »	10.5
10	»	»	» »	» » »	7.5
11	»	»	» »	Leaves without symptoms from the No 10 tree	13.5
12	»	»	Tree without symptoms in the vicinity of affected ones	Leaves without symptoms	12.0
13	»	»	Affected trees (sample taken from many trees)	Leaves with symptoms	7.5
	C. Yera area				
14	Halikas Stefani	30-4-60	Affected tree	» » »	7.5
15	» »	»	» »	» » »	8.5
16	Simanterellia	»	» »	» » »	8.5
17	Pefkara	»	» »	» » »	10.0
18	»	»	» »	» » »	8.5
19	Messagros	»	» »	» » »	9.0
20	»	»	» »	» » »	14.5
21	Kato Tritos (Sambani grove)	»	Tree without symptoms	Leaves without symptoms	14.5
22	» »	»	» » »	» » »	16.5
23	» »	»	» » »	» » »	20.0
24	Kato Tritos (Salibaktses)	»	» » »	» » »	20.0
25	»	»	» » »	» » »	21.5
	D. Kalloni area				
26	Koukos	»	Affected tree	Leaves with symptoms	9.5
27	»	»	» »	» » »	12.5
28	»	»	» »	» » »	10.0
29	»	»	Tree showing mild symptoms	Leaves with mild symptoms	13.5

TABLE I (continued)

No	Location	Date of collection	Condition of tree	Symptoms on collec.ed leaves *	Boron p.p.m. in dry matter
30	Koukos	30-4-60	Tree without symptoms	Leaves without symptoms	19.5
31	»	»	» » »	» » »	17.5
32	Dafia	28-4-60	» » »	» » »	18.5
33	»	»	» » »	» » »	21.0
34	»	»	» » »	» » »	20.0
35	»	»	» » »	» » »	19.0
36	»	»	» » »	» » »	23.0
37	Tholonia	30-4-60	» » »	» » »	18.5
38	**E. Mithymna area**	8-6-60	Affected tree	Leaves with symptoms**	12.0
39	**F. Lafiona area**	»	» »	Leaves with symptoms**	10.0
40	» »	»	» »	Leaves with symptoms**	12.5
	G. Moria area				
41	Ntoumeni grove	23-3-60	Tree without symptoms	Leaves without symptoms	14.5
42	» »	»	» » »	» » »	14.5
43	» »	»	» » »	» » »	15.5
44	» »	29-4-60	» » »	» » »	22.0
45	» »	»	» » »	» » »	20.0
46	» »	»	» » »	» » »	17.5
47	»	»	» » »	» » »	14.5
48	» »	»	» » »	» » »	17.5
49	Larissos	»	» » »	» » »	15.0
50	Stinochonia	18-10-60	Affected tree	Leaves with symptoms**	11.0
	H. Aghia Paraskevi area				
51	Klima	3-12-60	Affected tree	Leaves with symptoms**	8.5
52	»	»	» »	Leaves with symptoms from the rootstock (wild olive) of No 51 tree	7.0
	I. Other areas				
53	Mandamados-Pedi	11-5-60	Tree without symptoms	Leaves without symptoms	23.0
54	Neae Kydoniae	»	» » »	» » »	19.0
55	Mytilini-Pagani	30-4-60	» » »	» » »	20.0
56	» »	»	» » »	» » »	22.0

* Leaves from the middle of the past year's growth.
** Leaves from the current year's growth.

in more than 2 branches of each tree. The remaining branches were used as controls.

Results

Observations of the results were made on 15th of July 1960. In Kourou-Tsesmé the leaves of the young shoots of trees to which boron was given by any of the above methods, were free of symptoms in contrast to the young leaves of the controls where the symptoms could be clearly seen. However, at that time even on controls, chlorosis was not as pronounced as in old leaves.

Leaf analysis showed a satisfactory absorption of boron supplied either through the soil or by injection. Boron content of leaves of trees to which boron was given through the soil was 20 p.p.m. whereas in the controls was only 7.5 p.p.m. In the case of injections, boron content of leaves from treated branches and control branches was 18 and 7 p.p.m. respectively.

In Karyni the leaves of the young shoots of both controls and sprayed trees did not show any symptom by July. In the controls, however, symptoms appeared in the first fortnight of October whereas the sprayed trees remained free of symptoms.

The results of boron applications proved that the cause of the disease in all cases studied was boron deficiency.

SUMMARY

Boron deficiency in olive, observed in certain districts of Lesbos island, is reported for the first time from Greece.

The characteristic symptoms of the disease are described. The diagnosis of this deficiency was accomplished by leaf analysis and by the positive response of affected trees to boron applications given as foliar sprays, soil dressing, or branch injections.

*

We wish to express our sincere thanks to Mr. Th. Mavrovitis, Director of Agriculture of Lesbos County for his interest shown during the course of the experiments in Lesbos, and also to acknowledge the valuable help of Messrs. P. Panagopoulos and A. Aeginitis.

We are also indebted to Mr. D. Kouvaros for his assistance especially during boron applications.

LITERATURE CITED

CIFERRI R., RUI D., SCARAMUZZI G., CANDUSSIO R. and BONFANTE S., 1955. — La «leptonecrosi» da borocarenza dell' olivo. Parte I. *Ann. Sper. Agr.*, **9** : 1309-42.

CIFERRI R., RUI D., SCARAMUZZI G., CANDUSSIO R. and BONFANTE S., 1956a. — La «leptonecrosi» da borocarenza dell' olivo. Parte II. *Ann. Sper. Agr.*, **10** : 25-59.

CIFERRI R., RUI D., SCARAMUZZI G., CANDUSSIO R. and BONFANTE S., 1956b. — La «leptonecrosi» da borocarenza dell' olivo. Parte III. *Ann. Sper. Agr.*, **10** : 335-356.

DÉMÉTRIADÈS S. D., HOLEVAS C. D. and GAVALAS N. A. — A non parasitic disease of olive probably caused by abnormal Ca/Mg ratio within the plant. *Ann. Inst. Phytopath. Benaki,* (N.S.), **3** : 130-138.

HAAS A. R. C., 1945. — Boron content in Almond, Olive and Walnut trees. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **46** : 69-77.

HANSEN C. J., 1945. — Boron content of olive leaves. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **46** : 78-80.

HARTMANN H. T. and BROWN J. G., 1953. — The effect of certain mineral deficiencies on the growth, leaf appearance and mineral content of young olive trees. *Hilgardia*, **22** : 119-130.

MCDOUGALL D. and BIGGS D. A., 1952. — Estimation of boron in plant tissue. *Anal. Chem.*, **24** : 566-569.

NORO K., 1957. — Effects of the soil reaction and nutrient elements on the growth of the olive. III. Preliminary report on the relation between the soil reaction and nutrient elements, with special reference to the relation of the calcium to the growth of the olive tree. *Tech. Bull. Kagawa Agr. Coll*, **8** : 148-156 (Japanese with English summary).

RUI D., CIFERRI R., SCARAMUZZI G. and BONFANTE S, 1957. — Ulteriori indagini sulla «leptonecrosi» da borocarenza dell' olivo. *Notiz. Malatt. Piante*, **39** : 59-63.

SCOTT C. E., THOMAS H. E. and THOMAS H. E., 1943. — Boron deficiency in the olive. *Phytopathology*, **33** : 933-942.

Ann. Inst. Phytopath. Benaki, N.S., 3 : 130-138, 1960.

A NON PARASITIC DISEASE OF OLIVE PROBABLY CAUSED BY ABNORMAL Ca / Mg RATIO WITHIN THE PLANT [1, 2]

by

S. D. DÉMÉTRIADÈS, C. D. HOLEVAS and N. A. GAVALAS

Early in 1960 we had the opportunity to observe a large number of olive trees in Achladeri area of Lesbos island affected by a non parasitic disease.

In March, when the first observations were made, the diseased trees could be distinguished at a glance because of the golden-yellow colour of their foliage. On the leaves there could be observed a withering of their apex which became light or dark brown in colour. Just below the withered area the blade was yellow to orange - yellow at a zone of 2 - 20 mm wide. Below that zone the blade became gradually yellow - green. The leaf base, however, retained its normal green colour. A number of leaves did not show the withering of the tip. The discoloured area occupied the 1/3 - 2/3 of the blade (Fig. 1 and 2).

Dead twigs were also observed on certain severely affected trees. Discoloured leaves were shed earlier than normal. Nevertheless the foliage of the affected trees was not sparse because of the abundant annual growth.

Fruit bearing seemed rather normal as compared with non affected trees.

The appearance and development of the leaf symptoms were closely followed during 1960. A faint chorosis of the leaf apex, which was the first symptom observed, appeared on the new growth during June and July (Fig. 3).

The chlorotic area extended quickly towards the base of the leaf and finally covered the 1/3 - 2/3 of the blade (Fig. 1). Later on,

[1] Received November 28, 1960

[2] This work has been financially supported by The Royal Hellenic Research Foundation and the Ministry of Agriculture within the program of research on olive pests and diseases.

Fig. 1. Successive stages of leaf symptoms. Leaves from affected trees of Achladeri area. Upper row: Normal leaves. Center row: Chlorosis of the apical portion of the blade and initial withering of the tip. Lower row : Advanced withering of the leaf tip.

Fig. 2. Leaves from affected olive trees of Achladeri area. Tip withering and discolouration of the blade.

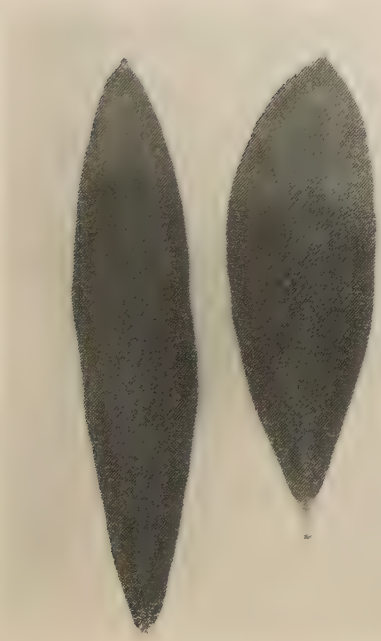


Fig. 3. Incipient chlorosis of the leaf apex. Olive leaves from Achladeri area.

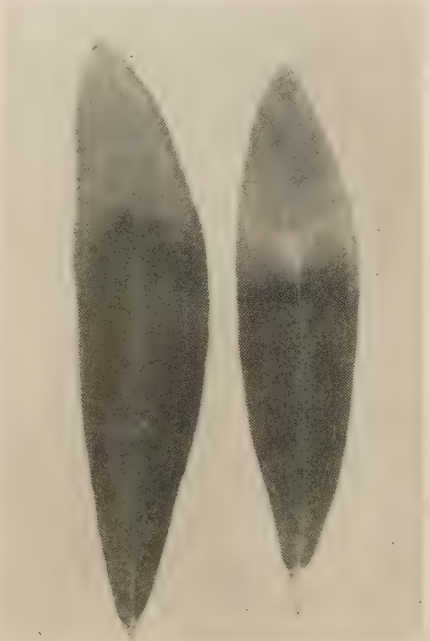


Fig. 4. Advanced chlorosis of the leaves just before the appearance of tip withering. (Achladeri area).

the apex of the leaf became orange - yellow and finally withered, the leaf attaining the picture already described (Fig. 2). The above symptoms appeared first on the basal leaves of the young shoots and gradually extended towards the upper ones. Thus it was possible late in the summer to follow the succesive stages of the discolouration by observing the leaves from the tips of the shoots towards the base. During the winter, however, even the higher leaves became fully affected and no differences between the upper and lower leaves could be observed.

On certain trees, leaf symptoms did not advance beyond the stage of simple chlorosis. On others, withered tips appeared only on a small number of leaves, although the orange-yellow discolouration was present (Fig. 4).

Affected leaves attained a normal size or remained slightly smaller.

***

The first thought, before noticing that symptoms begin to show on the basal leaves, was that we had to deal with boron deficiency, for leaf symptoms were identical to those appearing on boron deficient olive trees (1).

To test this hypothesis the boron content of leaves was determined*. Results of leaf analyses are given in Table I**.

On Table I one can see that:

a) Boron content, although low, was at such a level that the symptoms could not be attributed to boron deficiency. In fact, on other areas of the island where boron deficiency has been proved to exist, boron content of leaves varied between 7 - 14 p.p.m. (1).

b) Generally, there does not appear differences in boron content between affected and non affected trees, e.g. between samples N° 4 and N° 7.

c) Finally, boron content of the leaves of certain affected trees was at a normal level, e.g. samples N° 6 and N° 11.

Thus, the case seemed not to be a simple boron deficiency.

There arised, however, the possibility, that boron deficiency symptoms could be induced even at that boron level, because of the

* The quinalizarine method as modified by McDougall and Biggs (4) was used.

** Data in Tables I - III concern 15 representative samples of a total of 36 analysed.

unusually high magnesium content found also in the leaves, as it will be discussed a little later. This hypothesis was supported by the fact that leaf symptoms were identical to those of boron deficiency, as seen in other localities of the island (1), as well as because boron content of 14-17 p.p.m. can be considered as low. The influence of other elements on boron deficiency symptoms has been discussed by several authors (6).

TABLE I

Boron content of olive leaves *. Achladeri area, Lesbos island.

No	Location	Date of collection	Condition of tree	Boron p.p.m. in dry matter
1	Low field	22/3/60	Tree without symptoms	14
2	» »	»	» » »	17
3	» »	28/4/60	» » »	14.5
4	» »	»	» » »	17
5	» »	»	Tree with chlorotic leaves	11.5
6	» »	11/5/60	» » » »	21
7	» »	22/3/60	Tree with orange-yellow leaves with necrotic tip	17
8	» »	»	As No 7	16
9	» »	28/4/60	» »	13.5
10	» »	»	» »	13.5
11	» »	11/5/60	» »	22 5
12	Petradero	28/4/60	» » and «little leaves»	16
13	Palanjouda	»	» » » » »	17.5
14	Genatos	»	» » » » »	16
15	»	»	Tree with orange-yellow leaves without necrotic tip	14.5

* Leaves from the middle of the past year's growth.

In order to test this hypothesis, boron was applied to affected trees late in April. In one group of trees borax was given as a soil dressing at a rate of 400 gr. per tree. In another group the trees were sprayed with 6‰ borax solution. Finally in a third group boric acid was injected in the base of the main branches at a rate of 0.5 gr. per branch.

The results of these tests were negative. Two months after the applications, the treated trees showed exactly the same symptoms as did the controls. Meanwhile, it was also noticed for the first time that leaf symptoms appeared first on lower leaves. These facts clearly indicated that we had not to deal with boron deficiency.

*
* *

It remained the possibility of the magnesium toxicity to be examined because magnesite ($MgCO_3$) deposits exist in this area. Thus, the magnesium content of the leaves was determined *. The results are given in Table II.

TABLE II

Magnesium content of olive leaves. Achladeri area, Lesbos island.

No	Location	Date of collection	Condition of tree	Mg °/₀ in dry matter
1	Low field	22/3/60	Tree without symptoms	0.33
2	» »	»	» » »	0.44
3	» »	28/4/60	» » »	0.51
4	» »	»	» » »	0.27
5	» »	»	Tree with chlorotic leaves	0.36
6	» »	11/5/60	» » » »	0.50
7	» »	22/3/60	Tree with orange-yellow leaves with necrotic tip	0.59
8	» »	»	As No 7	0.42
9	» »	28/4/60	» »	0.41
10	» »	»	» »	0.59
11	» »	11/5/60	» »	0.61
12	Petradero	28/4/60	» » and «little leaves»	0.49
13	Palanjouda	»	» » » » »	0.42
14	Genatos	»	» » » » »	0.61
15	»	»	Tree with orange-yellow leaves without necrotic tip	0.60

As can be seen in Table II magnesium content of the leaves is much higher than normal. According to Hartmann and Brown (2) the

* The method employed by Young and Gill (8) was used.

normal level of magnesium in olive leaves lies between 0.15 - 0.20% According to these data magnesium toxicity could be considered as a possible cause of the disorder but a more thorough study was needed because it is known that magnesium toxicity does not depend only on magnesium content but rather on the ratio between magnesium and other elements especially calcium and potassium. Such a relation to other elements was supported by the fact that in certain cases affected and healthy leaves had the same magnesium content (Table II, samples N° 2, 3, 6 and 8). Calcium and potassium content of leaves was, therefore, determined ** and the ratios to magnesium were calculated. Results are given in Table III.

On Table III it can be seen that the leaves of affected trees had a low to very low calcium content in contrast to that of leaves of healthy trees which showed a nearly normal calcium content (7). Potassium content was low to normal and no differences could be found between affected and healthy trees.

Calcium content in samples No 5, 8 and 12 was at such a low level that one could consider the disease as calcium deficiency. According to Noro (5) calcium content of olive leaves deficient in this element lies at a level between 0.16-0.29 %.

However, calcium content in samples No 7, 10 and 14 though low was generally higher than this critical level; thus we could not consider the case as a typical calcium deficiency. Moreover, because the symptoms appear first on basal leaves of the new growth, the case could not be attributed to calcium deficiency induced by magnesium surplus in the soil and within the plant.

As it is shown in Table III the Ca/Mg ratio in leaves of trees without symptoms varies between 1.71 and 4.30 whereas in trees exhibiting symptoms stands always below 1.30.

There can be seen also a similar difference in Ca/K ratios. Here the difference is not so clear-cut since in samples 10 and 14 (affected trees) Ca/K ratio is 1.28 and 1.15 respectively whereas in sample 4 (symptomless tree) it has a value of 1.16.

There appear no differences in K/Mg and K/Ca+Mg ratios between affected and symptomless trees.

It must be noted that while this case was under study, samples of olive leaves from Stavros area, showing the same symptoms, were

---

** Calcium was determined by the calcium oxalate method (3) and potassium by the cobaltinitrite procedure (3).

TABLE III

Magnesium, calcium and potassium content of olive leaves and ratios between these elements.
Achladeri area, Lesbos island.

No	Location	Date of collection	Condition of tree	Content % in dry matter			Ca/Mg	Ca/K	K/Mg	K/Ca+Mg
				Mg	Ca	K				
1	Low field	22/3/60	Tree without symptoms	0.33	0.98	0.72	2.97	1.36	2.18	0.55
2	» »	»	» » »	0.44	1.04	0.65	2.36	1.60	1.48	0.44
3	» »	28/4/60	» » »	0.51	0.87	0.50	1.71	1.74	0.98	0.36
4	» »	»	» » »	0.27	1.16	1.00	4.30	1.16	3.70	0.70
5	» »	»	Tree with chlorotic leaves	0.36	0.28	0.82	0.78	0.34	2.28	1.28
6	» »	11/5/60	» » » »	0.50	0.40	0.94	0.80	0.43	1.88	1.04
7	» »	22/3/60	Tree with orange-yellow leaves with necrotic tip	0.59	0.55	0.71	0.93	0.77	1.20	0.62
8	» »	»	As No 7	0.42	0.23	1.07	0.55	0.21	2.55	1.65
9	» »	28/4/60	» »	0.41	0.32	0.95	0.78	0.34	2.32	1.30
10	» »	»	» »	0.59	0.77	0.60	1.30	1.28	1.02	0.44
11	» »	11/5/60	» »	0.61	0.44	0.71	0.72	0.62	1.16	0.68
12	Petradero	28/4/60	» » and «little leaves»	0.49	0.24	0.59	0.49	0.41	1.20	0.81
13	Palanjouda	»	» » » » »	0.42	0.33	0.90	0.79	0.37	2.14	1.20
14	Genatos	»	» » » » »	0.61	0.62	0.54	1.02	1.15	0.89	0.44
15	»	»	Tree with orange-yellow leaves without necrotic tip	0.60	0.45	0.60	0.75	0.75	1.00	0.57

TABLE IV

Boron, magnesium, calcium and potassium content of olive leaves and ratios between these elements.
Stavros area, Lesbos island.

No	Location	Date of collection	Condition of tree	Boron p.p.m. in dry matter	Content % in dry matter			Ca/Mg	Ca/K	K/Mg	K/Ca+Mg
					Mg	Ca	K				
1	Stavros, Maganika	10/5/60	Tree without symptoms	19.5	0.57	1.16	0.54	2.03	2.15	0.95	0.31
2	" "	"	Tree with chlorotic leaves	19.5	0.58	0.58	0.52	1.00	1.12	0.90	0.45
3	" "	"	Tree with orange-yellow leaves and necrotic tips	21.0	0.64	0.58	0.43	0.91	1.35	0.67	0.35

sent to the laboratory. Leaf analysis of these samples yielded also similar results as shown in Table IV.

From the data presented above one can believe that the disease under study is due to an abnormal Ca/Mg ratio within the olive tree. This nutritional abnormality is such as to conduce to magnesium toxicity rather than to calcium deficiency.

According to the data given in Table III symptoms of the disorder appear when the Ca/Mg ratio falls below a value lying somewhere between 1.30 to 1.70.

Further work on this disorder is in progress.

SUMMARY

A nutritional disorder of the olive tree observed on a large scale in Achladeri area of Lesbos island is described.

The symptoms of the disease appear on the leaves and consist of a chlorosis of the leaf apex which, later on, turns orange-yellow. Finally the leaf apex becomes necrotic.

These symptoms though identical to those of boron deficiency could not be attributed to a lack of this element since boron determinations in leaves showed a rather normal boron content and borax applications yielded negative results.

Magnesium, calcium and potassium determinations showed that affected trees have a much higher Mg content than normal and a considerably low Ca content.

From the data available it seems that Ca/Mg ratio in the leaves and the appearance of symptoms are related. The case is tentatively attributed to an unbalanced nutrition concerning these elements.

Further work on this disorder is in progress.

*

We would like to express our sincere thanks to Mr. E. Vetsos, Manager of the Achladeri property for his kind assistance and facilities offered.

We are also indebted to Mr. Th. Mavrovitis, Director of Agriculture of Lesbos County and to Messrs. P. Panagopoulos and A. Aeginitis for their help in this work.

LITERATURE CITED

1. Démétriadès S. D., Gavalas N. A. and Holevas C. D. — Boron deficiency in olive groves of Lesbos island. *Ann. Inst. Phytopath. Benaki*, (N.S.), **3**: 119-129.

2. Hartmann H. T. καὶ Brown J. G. — The effect of certain mineral deficiencies on the growth, leaf appearance and mineral content of young olive trees. *Hilgardia*, **22**: 119-130, 1953.

3. Johnson C. M. καὶ Ulrich A. — Analytical methods for use in plant analysis. *Calif. Agr. Exp. St., Bull* 766, pp. 26-78, 1959.

4. McDougall D. καὶ Biggs D. A. — Estimation of boron in plant tissue. *Anal. Chem.*, **24**: 566-569, 1952.

5. Noro K. — Effects of the soil reaction and nutrient elements on the growth of the olive. II. Effects of calcium, magnesium and potassium on the growth of the olive tree. *Tech. Bull. Kagawa Agr. Coll.*, **8**: 91-99, 1956.

6. Reeve E. καὶ Shive J. W. — Potassium-boron and calcium-boron relationships in plant nutrition. *Soil Sci.*, **57**: 1-14, 1944.

7. Spector W. S. (Edited by) — Handbook of Biological Data, p. 85. W. B. Saunders Co, Philadelphia and London, 1956.

8. Young H. Y. καὶ Gill R. F. — Determination of magnesium in plant tissue with thiazole yellow. *Anal. Chem.*, **23**: 751-754, 1951.

Ann. Inst. Phytopath. Benaki, N.S., 3 : 139-162, 1960.

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES SUR LA LUTTE CONTRE LA TEIGNE DE L'OLIVIER [1, 2]

par

M. C. SOULIOTIS et TH. A. COSTACOS

en collaboration avec

I. D. IOANNIDIS et Mme E. G. CAPONI-AGOROPOULOS

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION 141

I. DONNÉES DES RECHERCHES EXPÉRIMENTALES POUR LES ANNÉES 1947-57 142

II. RAPPORT ENTRE LA BIOLOGIE DE LA TEIGNE ET LES STADES DE VÉGÉTATION DE L'OLIVIER 143

III. RECHERCHE SUR L'EFFICACITÉ DE CERTAINS ESTERS PHOSPHORÉS EN VUE DE PROTÉGER LA PRODUCTION CONTRE L'ATTAQUE DE LA GÉNÉRATION CARPOPHAGE EN 1959 146

1. Objet des expériences 146

2. Insecticides employés 146

3. Méthode pour apprécier l'efficacité des insecticides . . 147

A. Expérience d'intervention simple 149

B. Expérience d'intervention double 150

[1] Ces recherches ont été faites par la Station Phytopathologique de Volo, dans le cadre du programme établi par le Ministère de l'Agriculture pour la mise en œuvre d'une méthode de lutte efficace contre la teigne de l'olivier.

[2] Reçu pour publication le 8 avril de 1960.

C. Expérience sur l'efficacité comparée du Rogor L et du Rogor P 151

D. Étude des propriétés déterminant l'efficacité des esters phosphorés sur la teigne 152

1. Recherche sur l'action adulticide 152

2. Recherche sur l'action ovicide 154

3. Recherche sur l'action larvicide 156

CONCLUSIONS 158

RÉSUMÉ 160

BIBLIOGRAPHIE 161

INTRODUCTION

Les dégâts causés tous les ans à la production oléicole de la Grèce par la teigne de l'olivier (*Prays oleellus* F.) sont énormes, peut-être supérieurs à ceux qui sont dûs au dacus.

Dans certaines régions oléicoles du pays, telles que le Mont Pélion de Volo, les îles Sporades etc., ont voit fréquemment la production entièrement détruite par la teigne, notamment en cas de récoltes réduites. En tous cas, la moyenne du préjudice annuel dans ces régions est supérieure à 50%.

Le parasitisme de cet insecte, notamment par le *Ageniaspis fuscicollis praysinicola* Silv. et le *Elasmus flabellatus* (Fonsc.) Westw. (11) ainsi que par d'autres d'une importance mineure, réussit rarement à réduire les dégâts, comme nous l'avons observé pendant plusieurs années consécutives, au moins dans des proportions telles qu'il ne soit plus nécessaire d'organiser la lutte contre l'insecte par la mise en œuvre de moyens artificiels. Cela se fait ailleurs (6).

Vu l'importance de cet ennemi de l'olivier, la Station Phytopathologique de Volo a été amenée depuis longtemps à rechercher un moyen efficace pour le combattre et une méthode d'application appropriée.

C'est grâce aux résultats de cette recherche que les oléiculteurs ont aujourd'hui à leur disposition une méthode, déjà très répandue, pour opposer une défense efficace contre les dégâts de la teigne.

Cette méthode consiste à opérer sur les oliviers des pulvérisations d'esters phosphorés une première fois lorsque l'insecte traverse sa troisième génération qui se nourrit de feuilles (phyllophage) une deuxième fois lorsqu'il traverse sa première génération qui se nourrit de fleurs (anthophage) et une troisième fois lorsqu'il traverse sa troisième génération qui se nourrit de fruits (carpophage).

Les résultats des expériences accomplies jusqu'à 1957 et les observations faites sur les applications de la méthode par les oléiculteurs ont montré qu'une pulvérisation pratiquée contre la génération carpophage de l'insecte ne suffit pas pour assurer la protection efficace de l'olivier, contrairement aux résultats satisfaisants obtenus contre les deux autres générations. Le problème de la lutte contre la teigne n'étant donc pas résolu dans son ensemble, il a été décidé de poursuivre les expériences au cours de l'année 1959.

Ces expériences visaient uniquement à éviter, avec du Parathion

et quelques autres esters phosphorés, le préjudice causé par le teigne sur le fruit de l'olivier.

I. DONNÉES DES RECHERCHES EXPÉRIMENTALES POUR LES ANNÉES 1947-1957.

Dans le courant de l'année 1947 la Station Phytopathologique de Volo employa pour la première fois le D.D.T., à titre d'essai, contre la teigne de l'olivier.

L'action de cet insecticide s'est révélée satisfaisante sur la chenille anthophage et sur l'adulte de la teigne, et l'expérience a permis de fixer les époques appropriées aux interventions.

Au cours des années suivantes les expériences contre la teigne se poursuivirent aussi bien avec du D.D.T. qu'avec du B.H.C. (12).

C'est sur les résultats de ces travaux que s'est appuyée la méthode adoptée par le Ministère de l'Agriculture pour combattre la teigne au D.D.T. (9).

De vastes recherches expérimentales eurent lieu en 1954 avec divers composés organiques chlorurés, entre autres le D.D.T., le B H.C. et le Dieldrin, et avec les esters phosphorés Parathion et Diazinon (13).

Ces expériences ont montré qu'en ce qui concerne l'efficacité contre la teigne, les esters phosphorés l'emportent sur les composés organiques chlorurés, cette supériorité étant due non seulement à leur action sur la surface des organes de la plante (feuilles, fleurs, fruits), mais encore à leur pénétration en profondeur ce qui a pour effet de tuer les chenilles qui se trouvent dans les cellules des feuilles, des fleurs fermées et des fruits.

D'autres expériences, faites au printemps 1954 dans des oliveraies traitées durant l'automne précédent par pulvérisations tardives au Parathion contre le dacus, permirent de constater que les arbres étaient presque entièrement débarrassés de chenilles de la génération phyllophage, grâce à l'action des pulvérisations automnales d'esters phosphorés (13).

L'action du Parathion contre la chenille de la teigne de tout âge à l'intérieur des feuilles a été aussi constatée par d'autres chercheurs (1).

Dans une région oléicole de 30.000 arbres environ, appartenant à M. A. Papadopoulos et sise à Roviès en Eubée, on a appliqué au cours des années 1955-57, c'est-à-dire pendant trois années consécu-

tives, une méthode mixte de lutte précoce contre le dacus et la teigne, au moyen de pulvérisations au Parathion (14, 15, 16).

En ce qui concerne la teigne, les travaux en question ont abouti aux constatations suivantes:

a) Une seule pulvérisation au Parathion 0,025 % sur les chenilles de la génération phyllophage, lorsque celles-ci se trouvent pour la plupart dans les cellules des feuilles, peut neutraliser les dégâts qu'elles causent aux bourgeons et aux boutons florales de l'olivier.

b) Une seule pulvérisation sur la chenille floricole suffit pour protéger les fleurs, pourvu qu'elle soit pratiquée au moment où la fleur est sur le point de «safraner», selon le terme dont se sert la Station Phytopathologique de Volo, c'est-à-dire au moment où, peu avant l'éclosion, la couleur verte de la fleur se mue en vert-jaune.

c) La pulvérisation faite contre les chenilles de la génération phyllophage ou anthophage ne suffit pas pour assurer la destruction de la teigne dans le cadre d'une vaste campagne insecticide, au point que les générations suivantes de l'insecte soient si réduites et les dégâts si insignifiants qu'il n'y ait pas lieu de repéter la pulvérisation.

Les opinions des chercheurs en ce qui concerne cette constatation sont partagées; il en est qui s'accordent avec nous (8), tandis que d'autres soutiennent au contraire qu'une intervention contre la génération phyllophage et à fortiori contre la génération anthophage, suffit pour mettre le fruit de l'olivier à l'abri des attaques des générations subséquentes (1, 3, 4, 5).

d) Une seule pulvérisation sur les chenilles carpophages ne suffit pas pour assurer au fruit une protection efficace étant donné que l'action résiduelle de l'insecticide ne peut pas couvrir la période du vol et de la ponte d'insecte.

Il a été aussi constaté en laboratoire que le Parathion empêche le développement des œufs de la teigne, sans pourtant qu'il ait été vérifié si cela est dû à une action ovicide ou pseudo-ovicide de ce produit. Enfin il a été constaté que le parathion est inopérant contre les nymphes (15).

II. RAPPORT ENTRE LA BIOLOGIE DE LA TEIGNE ET LES STADES DE VÉGÉTATION DE L'OLIVIER.

Au cours des recherches expérimentales précitées et de celles de l'année 1959, on s'est appliqué à suivre de près l'évolution des stades

biologiques de la teigne, dans toutes ses générations, afin de déterminer à chaque fois l'époque appropriée à l'application de la méthode de lutte pour en assurer le rendement optimum.

Cependant, comme les producteurs qui appliquent isolément cette méthode de lutte sont en pratique très difficilement en mesure de fixer d'après la biologie de l'insecte l'époque appropriée à l'intervention, on a procédé à l'étude des stades biologiques de la teigne en corrélation avec l'évolution des stades de végétation de l'olivier.

Cette étude a révélé un rapport extrêmement étroit entre la biologie de la teigne et les divers stades de la végétation de l'olivier. C'est ainsi, par exemple, que la fin de la ponte de l'adulte de la génération phyllophage de la teigne coïncide presque complètement avec la fin du jaunissement de la fleur de l'olivier; l'apparition de la larve de la génération carpophage coïncide avec le «départ» du fruit, selon l'expression adoptée par la Station Phytopathologique de Volo, en d'autres termes avec le stade où, après le nouage, les fruits normaux se laissent distinguer de ceux qui n'ont point été fécondés ou qui sont faussement fécondés et ainsi de suite.

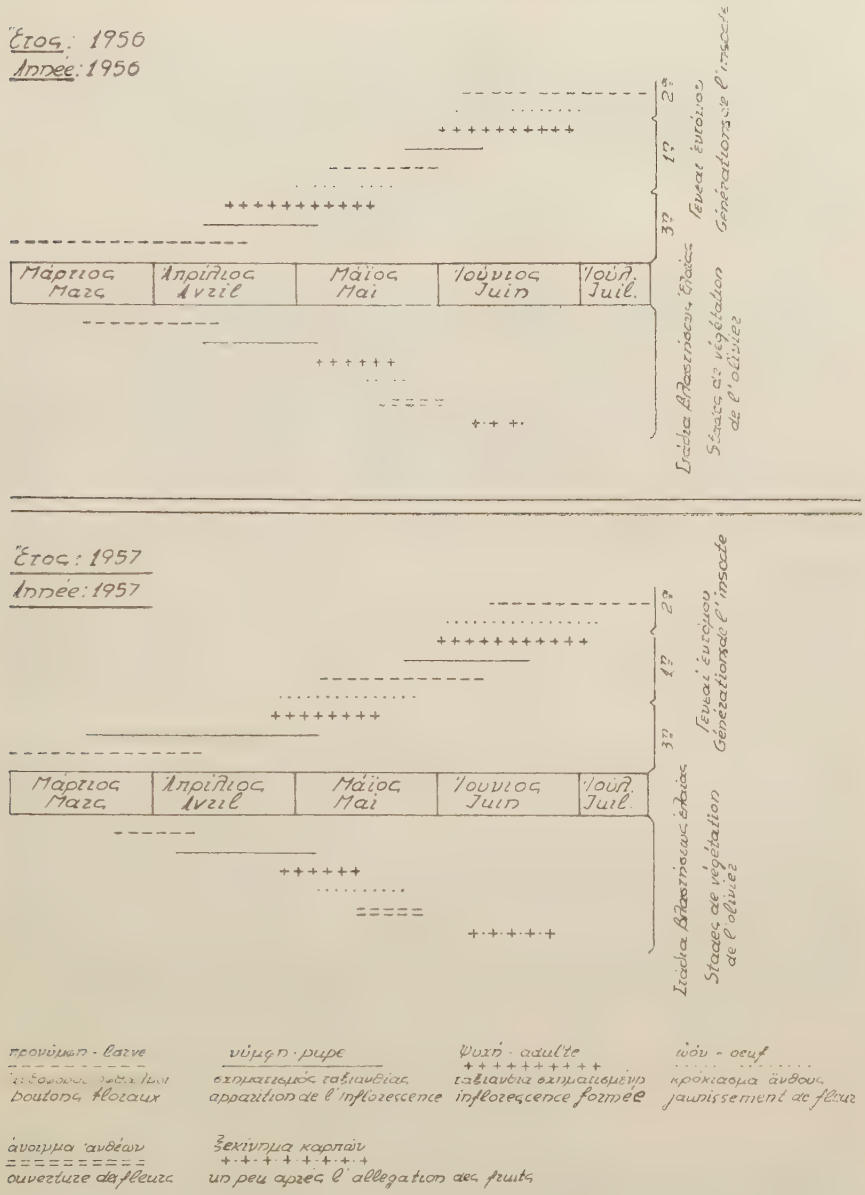
On sait que l'évolution des stades biologiques de la teigne, tout comme celle des stades de la végétation de l'olivier, est fortement influencée par les conditions atmosphériques, notamment par la température.

Suivant ces conditions, il se peut que d'une année à l'autre il y ait un écart dans l'apparition des stades biologiques de la teigne ou des stades correspondants de la végétation de l'olivier, ainsi que dans la durée de chacun de ces stades.

Cet écart qui s'accentue au commencement du printemps — parfois jusqu'à un mois — diminue petit à petit jusqu'à disparaître au commencement de l'été.

Il n'est pas difficile de fixer le moment de l'intervention d'après les observations faites sur les stades de la végétation et cela permet d'escompter que, appliquée par les producteurs, la méthode aura le rendement optimum.

On peut suivre sur la fig. 1 les stades successifs de la biologie de la teigne et de la végétation de l'olivier en 1956 et en 1957 dans l'oliveraie de Roviès-Eubée et se rendre ainsi compte de leur étroite corrélation.



Εικ 1. Βιολογία πυρηνοτρήτου Στάδια βλαστήσεως ελαίας περιοχής Ροβιών Έτη: 1956 - 1957

Fig. 1. Biologie du Prays oleelus - Stades de végétation de l'olivier de la région Rovies. Années: 1956-1957.

III. RECHERCHE SUR L'EFFICACITÉ DE CERTAINS ESTERS PHOSPHORÉS EN VUE DE PROTÉGER LA PRODUCTION CONTRE L'ATTAQUE DE LA GÉNÉRATION CARPOPHAGE EN 1959.

1. Objet des expériences

Comme les travaux antérieurs l'ont montré, il est possible de combattre efficacement la chenille phyllophage et anthophage de la teigne, au moyen d'une pulvérisation au Parathion pour chacune de ces deux générations. Par contre, une seule pulvérisation ne suffit pas à elle seule pour enrayer la chenille carpophage, d'autant moins que l'action de cette génération de l'insecte, localisée sur la récolte déjà considérée comme assurée, est plus forte que celle des autres générations. D'ailleurs, le préjudice causé par la chenille carpophage tombe plus facilement sous les sens des producteurs.

Il a donc paru très opportun de poursuivre au cours de l'année 1959 les recherches sur l'efficacité du Parathion contre la chenille carpophage et de commencer une nouvelle série d'expériences sur l'efficacité de certains autres esters phosphorés.

Il est évident que l'efficacité qui aura été constatée pour chacun des produits utilisés contre la génération carpophage de la teigne sera valable en conséquence pour ses autres générations.

Les expériences sur la lutte par simple et double intervention pour neutraliser les dégâts sur les fruits de l'olivier par la teigne furent organisées dans l'île de Skiathos, où l'on cultive exclusivement la variété d'olive de table dite «conservolia» et où les conditions de la fructification des oliviers et de la population de la teigne paraissaient favorables.

2. Insecticides employés

Les produits phytopharmaceutiques employés et les pourcentages de substance active contenus dans les bouillies à pulvérisation figurent au tableau I.

Les pulvérisations ont été faites au moyen de pulvérisateurs mécaniques, modèle Patria Z sous pression 25 Kgs/cm^2 environ.

La quantité de bouillie consommée jusqu'à l'écoulement, par arbre de taille moyenne et par pulvérisation, était de 15-20 kgs.

TABLEAU I

Insecticides et proportions de substance active.

Genre d'insecticides		Pourcentage de substance active dans la bouillie
Rogor L	Émulsion 20%, poids spécifique 0,895, Maison Montecatini, Italie	0,03 0,06
Rogor P	Poudre à poudrage 3%, Maison Montecatini, Italie	
Parathion, Ekatin	Folidol E 605, émulsion 46,7%, poids spécifique 1,16, Maison Farbenfabriken Bayer, Allemagne	0,03 0,06
	Émulsion 20% poids spécifique 1,095, Maison Sandoz S.A., Suisse	0,06
Phosdrin	Émulsion 25,4%, de la Société Shell	0,06

3 Méthode pour apprécier l'efficacité des insecticides.

On sait que la chenille carpophage, aussitôt sortie de l'œuf, perce le calice, pénètre dans la pulpe du côté du pédoncule et, cheminant vers le noyau, détériore les vaisseaux qui alimentent le fruit. Ainsi, la plupart des fruits attaqués étant insuffisamment alimentés se dessèchent et tombent. C'est la chute estivale (juin-juillet). Celle ci se distingue, d'après les dimensions des fruits tombés, en deux phases consécutives dont la première est appelée «poivre» par les producteurs, à cause d'une certaine ressemblance entre le poivre et les fruits tombés. La deuxième phase porte le nom de «calogri».

Outre la chute estivale, la teigne en provoque une deuxième, vers la fin de l'été (fin août-septembre), connue sous le nom de chute automnale.

Cette deuxième chute, qui est moins importante que la chute estivale, est due au fait que la chenille, après s'être complètement développée dans le noyau, en sort du côté du pédoncule qu'elle coupe.

Les esters phosphorés ayant la propriété d'agir en profondeur réussissent, comme on le verra plus bas, à détruire la chenille dans la pulpes. Mais le fruits ainsi assainis ne sont pas tous sauvés, car ceux

d'entre eux dont les vaisseaux ont été attaqués avant la destruction de la chenille tombent précocement, en «poivre» ou en «calogri».

Il s'ensuit que le degré d'énergie de chaque médicament et la vitesse de son action dans la pulpe en profondeur, influencent son efficacité.

Cette efficacité serait renforcée lorsque le remède réussit à neutraliser les formes de la teigne hors du fruit.

L'évaluation faite d'après la proportion des chenilles trouvées mortes à l'intérieur des fruits n'exprime pas la véritable efficacité d'un remède, laquelle est la résultante de toutes les propriétés particulières du produit, c'est-à-dire de son action adulticide, ovicide et larvicide.

En conséquence l'efficacité réelle (Ef) s'accroît en fonction de l'action résiduelle adulticide à la surface de la plante (Ya), de l'action ovicide (Ω), et de l'accroissement de l'action résiduelle larvicide, tant sur la surface du fruit (Yπε) que dans la pulpe (Yπσ).

L'action larvicide sur la surface du fruit se manifeste dans l'intervalle qui s'écoule depuis la sortie de la chenille dès son éclosion sous le calice, jusqu'à son entrée dans la pulpe.

L'efficacité réelle peut donc se formuler dans les termes de l'équation suivante:

$$Ef = f\,(Y\alpha,\ \Omega,\ Y\pi\sigma,\ Y\pi\varepsilon).$$

Étant donné que l'action ovicide ne peut pas dépasser un taux déterminé, puisqu'elle s'exerce seulement sur les œufs imprégnés par l'insecticide, il est évident que les taux maximum de l'efficacité se trouvera dans les produits réunissant le maximum d'action résiduelle adulticide et le maximum d'action larvicide en général.

Pour les motifs qui précèdent nous nous sommes donc appuyés, dans notre évaluation de l'efficacité réelle des insecticides, sur la totalité de la chute des fruits causée par la chenille carpophage, en pourcentages sur le nombre initial de fruits.

Voici comment nous avons procédé. Les fruits portés sur certaines branches des arbres traités furent dénombrés au moment du «départ» et aussitôt après la première pulvérisation.

A la fin de la chute estivale (19 août), les fruits furent de nouveau dénombrés et l'on ajouta à la différence le nombre de fruits reconnus attaqués sur le total des fruits encore pendants sur les branches, après en avoir cassé les noyaux.

La chute estivale comprend, comme de raison, outre les fruits détruits par l'action de la teigne, ceux qui tombent pour des causes

physiologiques ou autres. Il est très difficile de faire le partage entre les deux catégories. Mais, dans la comparaison de l'efficacité des divers insecticides contre la teigne, le résultat ne sera aucunement influencé si l'on impute entièrement à l'attaque de l'insecte le total des différents taux du préjucice causé.

Bien que l'appréciation de l'efficacité des insecticides se fasse d'après la totalité des dégâts causés par la teigne, nous fournirons plus bas quelques données concernant leur action adulticide, ovicide et larvicide en surface et à l'intérieur du fruit, afin de déterminer les propriétés particulières qui contribuent à former l'efficacité de chaque insecticide.

A. Expérience d'intervention simple

Cette expérience s'est déroulée sur sept cas au total, en quatre répétitions dont chacune comprenait un arbre. On utilisait donc vingt huit arbres, disposés au hasard. Ces arbres étaient séparés les uns des autres par des zones de sûreté formées de quatre ou cinq arbres laissés sans pulvérisation.

La pulvérisation eut lieu le 11 juin, au «départ» du fruit, coïncidant avec l'éclosion des premiers œufs.

Le total des dégâts causés par la teigne figure au tableau II.

TABLEAU II

Pourcentages totaux des dégâts causés par la teigne au fruit de l'olivier.

Date de la pulvérisation : 11.6.1959

Genre d'insecticides		Répétitions				Moyenne
		I	II	III	IV	
Rogor L	0,03 %	54,7	46,8	56,3	54,7	53,1
» »	0,06 %	50,0	53,6	39,2	55,9	49,7
Parathion (émulsion)	0,03 %	58,8	47,4	58,1	50,0	53,6
» »	0,06 %	56,1	55,2	74,0	60,4	61,4
Ekatin	0,06 %	53,7	63,7	68,6	62,9	62,2
Phosdrin	0,06 %	44,2	52,9	70,9	68,5	59,1
Témoin (eau)		45,0	65,4	75,8	52,8	59,8

Taux F 1,15 statistiquement insignifiant à 5 %.

On voit que, d'après les données du tableau II, aucune différence statistiquement appréciable ne se présente entre les divers insecticides et leurs proportions d'une part, et le témoin de l'autre.

B. Expérience d'intervention double

Cette expérience a aussi compris sept cas en quatre répétitions, soit au total vingt-huit parcelles expérimentales, chacune d'un arbre pris au hasard. Ici aussi les arbres traités furent séparés les uns des autres par des zones de sûreté formées de quatre ou cinq arbres non traités.

La première pulvérisation eut lieu le 10 juin et la deuxième dix jours après, soit le 20 juin.

Les pourcentages totaux de la chute des fruits par la teigne sont consignés au tableau III.

TABLEAU III

Pourcentages totaux des dégâts causés par la teigne au fruit de l'olivier.

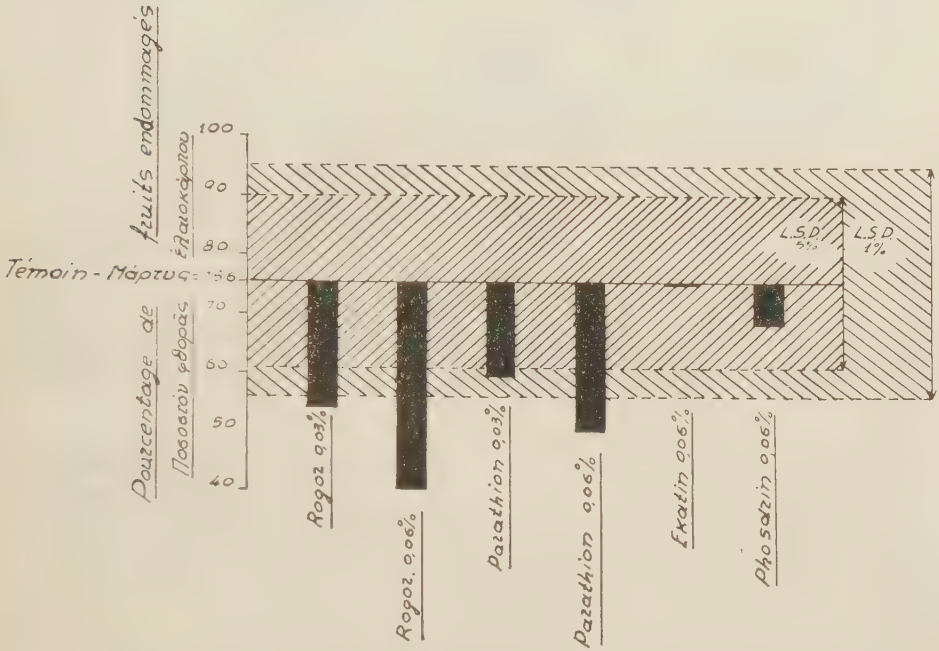
Date de la 1ère pulvérisation 10.6.59
» » » 2ème » 20.6.59

Genre d'insecticides		Répétitions I	II	III	IV	Moyenne
Rogor L	0,03 %	57,5	54,6	52,5	51.8	54,1
» »	0,06 %	40,7	55,5	30,2	34,0	40,1
Parathion (émulsion)	0,03 %	51,1	56,8	71,5	59,0	59,6
» »	0,06 %	53,5	62,4	43,2	41,3	50,1
Ekatin	0,06 %	69.9	84,9	68,3	78,4	75,4
Phosdrin	0,06 %	61,7	56,4	74,2	81,4	68,4
Témoin (eau)		56,0	78,1	80,1	88,3	75,6

Minimum de différence significative (L.S.D.) pour 5% 14,8
» » » » » » 1% 20,2

Les données de ce tableau font ressortir la supériorité, par rapport au témoin, et même sur un plan de probabilités 1%, du Rogor L 0,06%, du Parathion 0,06% et du Rogor L 0,3%; aussi celle du Parathion 0,03% sur un plan de probabilités 5%.

Ces résultats figurent sur la représentation graphique de la fig. 2.



Εἰκ. 2 Ἐπιτευχθέντα ἀποτελέσματα διά τῆς ἐφαρμογῆς διαφόρων ἐντομοκτόνων κατά τοῦ πυρηνοτρήτου

Fig. 2. Résultats obtenus par l'application des insecticides utilisés contre la teigne de l'olivier.

C. Expérience sur l'efficacité comparée du Rogor L et du Rogor P

Comme dans plusieurs régions oléicoles du pays il n'y a pas suffissament d'eau pour pratiquer les pulvérisations contre la teigne, on a estimé opportun d'examiner l'efficacité des poudrages. Si la poudre s'avérait suffisamment efficace la difficulté serait éliminée.

Parmi les insecticides en poudre on a utilisé seulement le Rogor P 3%, en comparaison avec le Rogor L 0,06%. L'expérience comportait deux cas, chacun en treize répétitions, soit au total vingt-six parcelles, chacune d'un arbre pris au hasard. Des zones de sûreté de dix arbres étaient aménagées entre chaque parcelle.

Une seule intervention fut faite, le 12 juin, à l'aide d'un épandeur à bras. La quantité de poudre consommée a été de 500 grs par arbre.

TABLEAU IV

Pourcentages totaux des dégâts causés par la teigne au fruit de l'olivier.

Date de la pulvérisation 12.6.59

Genre d'insecticides	Répétitions													Moyenne
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	
Rogor P 3 %	61,5	65,9	83,3	69.0	73,7	72,9	65.3	60,0	64,5	65.9	56,8	71.9	75.3	68,2
Rogor L 0,06 %	69 3	56,1	80,1	41,9	64,9	64,1	54,5	65.6	73 3	70.7	69.6	69,2	71.4	65,4

Taux F 0,65 statistiquement insignifiant à 5 %.

Les résultats de cette expérience figurent au tableau IV. Il en ressort qu'aucune différence statistiquement appréciable ne se présente entre le Rogor L 0,06 % et le Rogor P 3 %.

D. Étude des propriétés déterminant l'efficacité des esters phosphorés sur la teigne

1. Recherche sur l'action adulticide

Pour repérer l'action adulticide, directe ou résiduelle, des insecticides employés, on a placé des collecteurs sous les arbres traités par simple intervention, ainsi que sous les arbres traités par intervention double pendant leur deuxième pulvérisation, et enfin sous les arbres de l'expérience comparée entre Rogor L et Rogor P, après quoi on a procédé au dénombrement des adultes abattus après le traitement. Les dénombrements se faisait toutes les heures, pendant quelques jours jusqu'à la cessation quasi complète des abattages.

Les résultats de l'opération figurent aux tableaux V et VI.

Il ressort des données du tableau V que lors de la pulvérisation du 11 juin, seul le Phosdrin 0,06 % a présenté par rapport aux autres insecticides et le témoin une différence statistiquement appréciable et, même, sur un niveau de probabilité 1 %.

TABLEAU V

Abattages d'adultes de la teigne sur les collecteurs (moyennes de quatre répétitions).

Genre d'insecticides		Date de la pulvérisation : 11.6.59 Abattages : du 11 au 16.6.59	Date de la pulvérisation : 20.6.59 Abattages : du 20 au 30.6.59
Rogor L	0,03 %	23,3	35,3
» »	0,06 %	31,3	45,8
Parathion (émulsion)	0,03 %	38,3	44,0
» »	0,06 %	30,0	52,5
Ekatin	0,06 %	40,0	58 8
Phosdrin	0,06 %	150,0	70,8
Témoin (eau)		20,0	28,3
Minimum de différence significative (L.S.D.) pour 5 %		38,4	19,0
Minimum de différence significative (L.S.D.) pour 1 %		52,6	26 0

TABLEAU VI

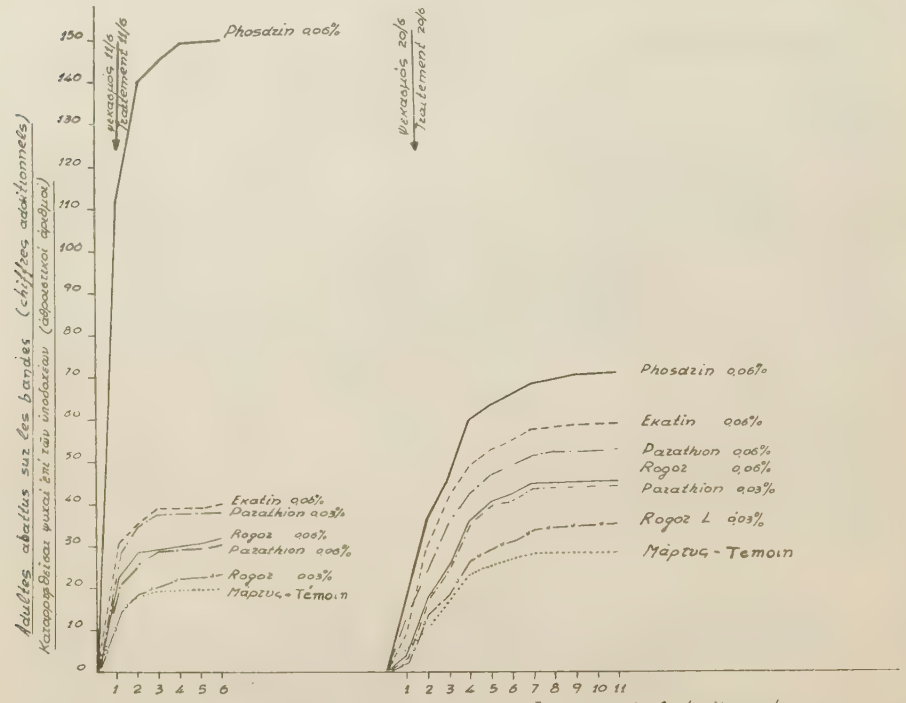
Abattages d'adultes de la teigne sur les collecteurs du 12 au 21.6.59, après l'intervention du 12.6.59.

Genre d'insecticides		Répétitions													Moyenne
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	
Rogor P	3 %	22	30	27	29	21	45	26	28	27	23	25	23	20	26,6
Rogor L	0.06 %	10	16	11	12	14	13	8	12	22	15	20	16	6	13,5
Minimum de différence significative (L.S.D.) pour 5%											4,44				
» » » » » » 1%											6,23				

Lors de la pulvérisation du 20 juin les différences statistiquement notables par rapport au témoin sont marquées par le Phosdrin 0,06 % (99 : 1), l'Ekatin 0,06 % (99 : 1) et le Parathion 0,06 % (95 : 5).

Les données du tableau VI montrent que le Rogor P 3 % présente une différence statistiquement notable (99 : 1) par rapport au Rogor L 0,06 %.

L'évaluation de l'action adulticide directe et résiduelle des médicaments, en fonction du temps écoulé depuis l'intervention apparait sur les représentations graphiques des figures 3 et 4.



Εἰκ. 3. Ἄμεσος καὶ ὑπολειμματικὴ ἐπὶ τῶν ψυχῶν τοῦ πυρηνοιρήτου ἐνέργεια διαφόρων ὀργανοφωσφορικῶν ἐστέρων
Fig. 3. Action immédiate et résiduelle de divers esters organophosphotiques contre les adultes du Prays oleellus

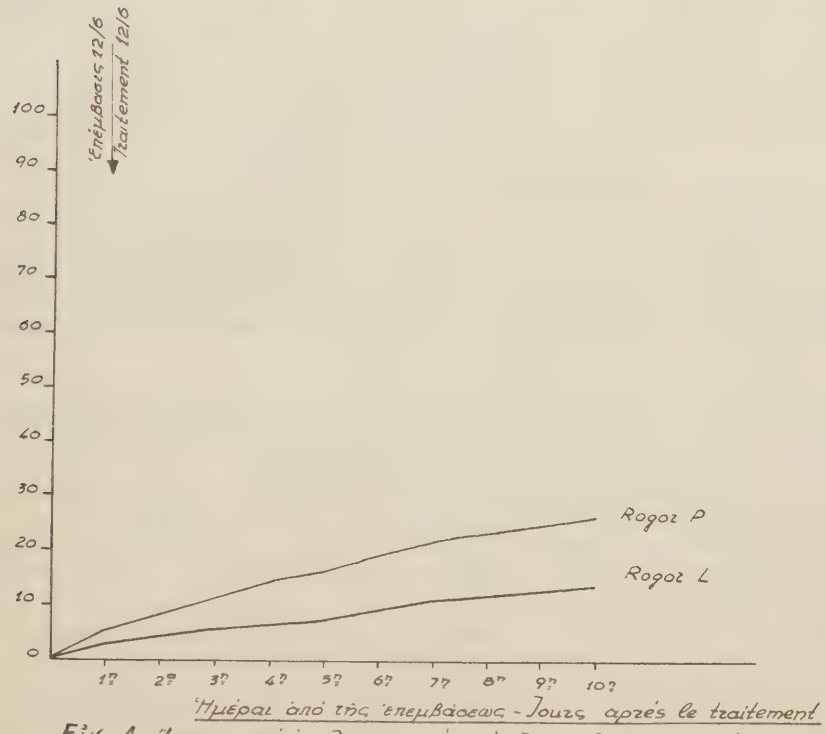
La fig. 3 montre clairement que, pour tous les insecticides qui font l'objet de nos expériences, l'action adulticide résiduelle ne dure pas plus de 4-7 jours.

La fig. 4 montre de son côté qu'après le 7e jour l'action adulticide résiduelle du Rogor P 3% et du Rogor L 0.06% ne cesse pas entièrement mais se trouve à un niveau tellement bas que pratiquement elle est réputée inexistante.

2. Recherche sur l'action ovicide

Pour étudier l'action ovicide du Rogor un certain nombre d'adultes de la teigne furent placées dans des boîtes de Pétri, sur les pa-

rois desquelles elles déposèrent leurs œufs. Vingt quatre heures plus tard les adultes furent mises en liberté et la moitié du nombre des boîtes furent imprégnées d'une solution de Rogor L 0,06 °/₀, tandis que



Εἰκ 4 Ἄμεσος καὶ ὑπολειμματικὴ ἐπὶ τῶν ψυχῶν πυρηνοτρήτου ἐνέργεια τοῦ Rogor P 3% καὶ Rogor L 0,06%

Fig 4. Action immédiate et résiduelle du Rogor P 3% et Rogor L 0,06% contre les adultes du Prays oleelus

l'autre moitié, qui servirent de témoins, furent simplement imprégnées d'eau. Une semaine plus tard, les œufs de la teigne déposés sur la vitre des boîtes ayant été examinés au microscope stéréoscopique, il a été constaté que, dans les boîtes-témoins, les chenilles sorties des œufs étaient mortes à peu de distance de leur coque, tandis que les œufs imprégnés de Rogor L 0,06 °/₀ n'avaient pas éclos, et qu'au surplus aucun embryon ne s'y était développé.

Voici les données de ces expériences, exprimées en chiffres:

Rogor L 0,06 °/₀	œufs éclos	0,0 °/₀
Témoin (Eau)	» »	90,5 °/₀

L'action ovicide du Rogor L 0,06% ressort clairement des données qui précèdent.

D'autre part, comme il a été dit plus haut, nos expériences préliminaires ont montré que le Parathion agit sur les œufs de la teigne et les détruit, sans pourtant que l'on ait put vérifier s'il s'agit d'une action proprement ovicide, comme sur les œufs du ver à soie (17), ou pseudo-ovicide, comme sur les œufs de la mouche domestique (7).

3. Recherche sur l'action larvicide

Pour contrôler l'action larvicide des médicaments nous avons fait deux échantillonnages de fruits, pour chacune des expériences celle de l'intervention simple, et celle de l'intervention double. Les fruits

TABLEAU VII

Chenilles mortes, en pourcentages sur le total de chenilles mortes et vivantes (moyennes de quatre répétitions).

Date de la pulvérisation :	11.6.59
Nombre de fruits par échantillon	300-600
Nombre de chenilles examinées par échantillon :	50

Genre d'insecticides		Date de l'échantillonnage et de l'examen					
		16-17.6.59			25-26.6.59		
		A la surface	Dans la pulpe	Total	A la surface	Dans la pulpe	Total
Rogor L	0,03 %	17,5	29,5	47,0	13,5	39,0	52,5
» »	0 06 %	21,5	51,0	72,5	15,5	35,5	50 1
Parathion (émulsion)	0,03 %	18,5	35,5	54,0	23,0	39,0	62,0
» »	0,06 %	28,5	38,5	67,0	13,5	41,5	55,0
Ekatin	0,06 %	6,5	12,0	18,5	7,5	9,0	16,5
Phosdrin	0,06 %	12,0	16,0	28,0	9,0	16,0	25,0
Témoin (eau)		5,0	4,5	9,5	3,0	3,0	6,0
Minimum de différence significative (L.S.D) pour 5%		8,8	10,6	17,4	—	18,3	22,9
Minimum de différence significative (L S D.) pour 1%		12,0	14.5	23,8	—	25,1	31,3

de chaque échantillon (200-600 au total) examiné au microscope stéréoscopique pour déterminer le pourcentage de chenilles mortes et vivantes tant sous la calice à l'extérieur du fruit que dans la pulpe.

Les résultats de ces examens figurent aux tableaux VII et VIII.

TABLEAU VIII

Chenilles mortes, en pourcentages sur le total de chenilles mortes et vivantes (moyennes de quatre répétitions).

Date de la première pulvérisation :	11.6.59
» » » seconde » :	20.6.59
Nombre de fruits par échantillon :	200-600
Nombre de chenilles examinées par échantillon :	50

Genre d'insecticides		Date de l'échantillonnage et de l'examen					
		23-24.6.59			1-3.7.59		
		A la surface	Dans la pulpe	Total	A la surface	Dans la pulpe	Total
Rogor L	0,03 %	24,5	53,5	78,0	25,0	66,5	91,5
» »	0,06 %	31,5	51,5	83,0	34,0	60,5	94,5
Parathion (émulsion)	0,03 %	24,5	42,0	66,5	32,0	54,0	86,0
» »	0,06 %	38,0	50,0	88,0	26,0	59,5	85,5
Ekatin	0,06 %	7,5	23,5	31,0	8,0	28,0	36,0
Phosdrin	0,06 %	7,5	24,0	31,5	6,5	32,0	38,5
Témoin (eau)		1,5	3,5	5,0	0	6,5	6,5
Minimum de différence significative (L.S.D.) pour 5 %		10,9	14,2	16,3	14,9	25,4	26,7
Minimum de différence significative (L.S.D.) pour 1 %		15,0	19,4	22,2	21,4	34,8	36,3

Il ressort des données du tableau VII que très peu après la pulvérisation le Rogor L 0,06 %, le Parathion 0,06 %, le Parathion 0,03 % et le Rogor 0,03 % présentent des différences statistiquement notables (99 : 1) par rapport au témoin, en ce qui concerne les chenilles tant à la surface du fruit que dans la pulpe. Le Phosdrin 0,06 % présente aussi une différence statistiquement appréciable (99 : 1) en ce qui concerne les chenilles à l'intérieur du fruit.

Lors de l'échantillonnage fait quatorze ou quinze jours après la pulvérisation, aucun insecticide n'a marqué de supériorité statistiquement par rapport au témoin en ce qui concerne les chenilles à la surface du fruit. Au contraire, en ce qui concerne les chenilles à l'intérieur du fruit, le Rogor L 0,06%, le Parathion 0,06%, le Parathion 0,03% et le Rogor L 0,03% l'emportent sur le témoin et sur les autres produits (99 : 1).

Il ressort du tableau VIII que les Rogor L 0,03%, Rogor L 0,06%, Parathion 0,03% et Parathion 0,06% présentent par rapport au témoin une différence statistiquement notable (99 : 1), en ce qui concerne les chenilles à la surface et à l'intérieur du fruit, tant lors de l'échantillonnage fait 3-4 jours après la deuxième pulvérisation, que lors de l'échantillonnage suivant, 11-13 jours après cette même pulvérisation.

Le Phosdrin 0,06% et l'Ekatin 0,06% marquent aussi par rapport au témoin et pour les deux échantillonnages une différence statistiquement notable (99 : 1), due notamment à leur action à l'intérieur du fruit, laquelle est considérable.

Cependant, entre ces deux derniers produits et les précédents, la différenee est statistiquement notable, même sur un plan de probabilités 1%.

Entre le Rogor L et le Parathion, indépendamment de proportion de substance active, il n'y a pas de différence statistiquement appréciable.

CONCLUSIONS

Les recherches expérimentales que nous avons faites jusqu'à 1957 ont montré que le problème de la lutte contre la génération phyllophage et anthophage de la teigne doit être réputé résolu grâce aux esters phosphorés.

Une seule pulvérisation pratiquée contre la chenille phyllophage vers la fin de l'hiver protège suffisamment les bourgeons et les boutons florales de l'olivier.

Une autre pulvérisation pratiquée contre la chenille anthophage assure aussi une protection efficace des fleurs.

Cependant, malgré l'efficacité de la lutte contre la chenille phyllophage et anthophage, la production ne serait pas sufisamment protégée si l'on ne combattait pas avec succès la génération carpophage de l'insecte.

C'est à quoi visaient nos expérienees de 1959: déterminer l'efficacité de certains esters phosphorés contre la teigne en général et, en particulier, contre sa génération carpophage, au moyen d'une ou deux pulvérisations.

A la suite de ces expériences il a été constaté ce qui suit:

1. Une seule pulvérisation au moment du «départ» des fruits, quel que soit le l'insecticide employé, ne produit aucune différence statistiquement notable par rapport au témoin.

2. Au moyen de deux pulvérisations, dont la première au «départ» des fruits et la deuxième dix jours plus tard, faites au Rogor L 0,06%, Parathion 0,06%, Rogor L 0,03% et – mais avec des résultats plus limités – au Parathion 0,03%, on obtient une notable protection des fruits.

Par contre, l'Ekatin 0,06% et le Phosdrin 0,06% ne révèlent aucune efficacité.

3. Dans le cas d'une seule intervention le Rogor L 0,06% et le Rogor P 3% ont eu la même efficacité.

4. En ce qui concerne l'action adulticide il a été constaté que le Phosdrin 0,06% présente constamment la plus grande efficacité, suivi de l'Ekatin 0,06% et du Parathion 0,06%. Mais cette efficacité ne dure pas plus de 4-7 jours.

5. Le Rogor P 3% est supérieur au Rogor L 0,06% en ce qui concerne l'action adulticide.

6. Le Rogor L exerce une très forte action ovicide. Lors d'expériences antérieures, il a été également constaté que le Parathion aussi détruit les œufs de la teigne.

7. Le Rogor L 0,06%, le Parathion 0,06%; le Parathion 0,03% et le Rogor L 0,03%, présentent, 5-6 jours après la date de l'unique pulvérisation, une efficacité larvicide considérable, tant à la surface qu'à l'intérieur du fruit. Le Phosdrin 0,06% exerce une action larvicide, mais sur une plus petite échelle et seulement contre les chenilles dans la pulpe.

L'action larvicide en surface de tous les insecticides précités cesse 14-15 jours après la pulvérisations, tandis qu'elle persiste à l'intérieur du fruit, sauf en ce qui concerne le Phosdrin 0,06%. L'Ekatin 0,06% ne présente aucune efficacité larvicide après le 5e ou 6e jour de la pulvérisation, pas plus en surface qu'à l'intérieur du fruit.

L'efficacité de ces insecticides sur la chenille de la teigne carpophage, combinée à leur action adulticide résiduelle limitée, ne suffit pas pour nettoyer entièrement les oliviers traités qui, d'ailleurs, quand

la campagne contre la teigne est organisée à une petite échelle, se repeuplent à la suite de nouvelles contaminations venues d'oliveraies voisines restées sans traitement. Ainsi s'explique l'inefficacité de la pulvérisation unique.

Cependant, puisque l'action adulticide, et larvicide à la surface du fruit disparaît quelques jours après la pulvérisation, il nous faut admettre que l'action larvicide à l'intérieur du fruit s'affaiblit elle aussi rapidement, en sorte que l'attaque ultérieure évolue sans obstacle et que finalement la pulvérisation unique n'assure aucune protection.

S'il en est ainsi, le niveau de chenilles trouvées mortes à l'intérieur du fruit 14-15 jours après la pulvérisation doit se rapporter aux mêmes chenilles que l'on trouve mortes 5-6 jours après la pulvérisation.

8. Le résultat obtenu à la suite d'une deuxième pulvérisation corrobore les points de vue que nous venons d'exposer.

La deuxième pulvérisation avec des insecticides tels que le Rogor L 0,06°/₀, le Parathion 0,06°/₀, le Rogor L 0,03°/₀ et le Parathion 0,03°/₀, assure au fruit de l'olivier une protection entièrement satisfaisante, en prolongeant l'action sur l'adulte, et sur la chenille de la teigne et en détruisant les œufs pondus jusqu'alors. Et c'est grâce au moyen d'insecticides dont les propriétés combinées accroissent l'efficacité.

RÉSUMÉ

A la suite de recherches expérimentales faites à la Station Phytopathologique de Volo jusqu'à 1957, on a été amené à conclure qu'il est possible de protéger efficacement contre la teigne les boutons, les bourgeons et les fleurs de l'olivier au moyen d'une première pulvérisation, vers la fin de l'hiver, d'esters phosphorés (Parathion) contenant 0,025°/₀ de substance active, et d'une deuxième pulvérisation à la veille de la floraison.

Mais la protection du fruit de l'olivier contre les dégâts causés par la teigne carpophage n'a pas été suffisamment assurée au moyen d'une seule pulvérisation au Parathion.

C'est pourquoi, au cours de l'été 1959, on a essaye des méthodes de lutte contre l'attaque de la teigne carpophage avec une ou deux pulvérisations au Parathion, Rogor, Ekatin et Phosdrin. Avec ces expériences nous avons étudié en même temps, pour chacun de ces produits, leurs propriétés particulières, c.à.d. leur action adulticide,

ovicide et larvicide, dont la combinaison contribue à l'efficacité de l'insecticide.

L'efficacité comparée du Rogor L et du Rogor P a fait aussi l'objet d'une expérience.

Ces expériences ont montré qu'une seule pulvérisation, quel que soit l'insecticide employé, ne suffit pas pour assurer la protection du fruit de l'olivier contre la teigne carpophage.

Par contre, une protection parfaitement efficace peut être assurée au moyen de deux pulvérisations, dont la première au «départ» des fruits et la deuxième dix jours après, faites au Rogor L 0,06%, Parathion 0,06%, Rogor 0,03% et – mais avec des résultats plus limités – au Parathion 0,03%.

Il a été en outre établi que le Rogor L 0,06% et le Rogor P 3% ont la même efficacité en cas d'une seule intervention.

Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à M. Antonis Papadopoulos, qui s'est empressé de mettre à notre disposition sa propriété de Roviès en Eubée avec son personnel et son équipement, pour faciliter nos expériences des années 1955-57.

Nos vifs remerciements s'adressent aussi à M. C. Pelekassis, chef du Laboratoire de Biologie et de Lutte de l'Institut Phytopathologique Benaki qui a eu la bonté de lire et de commenter le manuscrit de ce travail.

BIBLIOGRAPHIE

1. Antongiovanni E. — Ricerche sull' efficacia del Parathion contro la generazione fillofaga della tignola dell' olivo. Lab. Sper. Agrario Soc. Montecatini Signa. Firenze, 1955.
2. Antongiovanni E. — Lotta contro la tignola del' olivo con l' impiego della N monometilamide dell' acido o.o-dimetilditiofosforilacetico. *Olivicoltura* No 5 Roma 1956.
3. Antongiovanni E. — Impiego del Rogor contro la generazione antofaga della tignola dell' olivo. *Olivicoltura* No 1. Roma 1957.
4. Antongiovanni E. — Lotta contro la generazione carpofaga della tignola dell' olivo a mezzo del Rogor. *Olivicoltura* No 4. Roma 1957.
5. Ανωνυμος. — La lotta contro la tignola dell' olivo. Notiziario Tecnico No 5. Ediz. Montecatini Milano. Gennaio 1959. (Texte polygraphié)
6. Martelli G. — Norme tecniche per la lotta contro la tignola dell' olivo. *Osserv. di Fitopatologia di Bari.* Circolare No 7. 1949.

7. Mehrotra K.N. and Smallman B.N.— Ovicidal action of organophosphorus insecticides. *Nature* **180**: 97-98, 1957.

8. Mellis A. — Il contributo dell' Italia all azione combinatta dei paesi del Bacino Mediterraneo per lo studio del problema del Dacus nel triennio 1955-57. Firenze Novem. 1957.

9. Papoutsi E. — La teigne de l'olivier. Édition du Ministère de l'Agriculture, Direction d'Applications Agricoles et d'Enseignement. Bulletin No 27, Athènes 1953 (en grec).

10. Pellegrini G. — Lotta contro la tignola dell' olivo a mezzo di un trattamento contro la generazione antofaga. Montecatini Instituto ricerche agrarie. Signa 1958. (Texte polygraphié).

11. Silvestri F.—La tignola dell' olivo. *Boll. Lab. Zool. Gen. e Agr. Portici*, **II**: 83-184. 1908.

12. Soulioti M. — La teigne de l'olivier. Édition de la Station Phytopathologique de Volo — Instruction No 12 (texte polygraphié), Volo 1953 (en grec).

13. Soulioti M. — Rapport sur la lutte contre la teigne de l'olivier au moyen de nouveaux insecticides synthétiques (DTT, BCH, Parathion), étude inédite, présentée au Ministère de l'Agriculture, Direction de Phytopathologie, Volo 1954 (en grec).

14. Soulioti M. — Rapport sur la lutte mixte contre le dacus et la teigne de l'olivier à Roviès en Eubée en Eubée en 1955, Volo 1955 (en grec).

15. Soulioti M. et Kostakos Th. — Rapport sur la lutte mixte précoce contre le dacus et la teigne de l'olivier à Roviès en Eubée en 1956, étude inédite présentée au Ministère de l'Agriculture, Direction de Phytopathologie, Volo 1956 (en grec).

16. Soulioti M., Kostakos Th. et Pavlopoulos E. — Rapport sur la lutte mixte précoce contre le dacus et la teigne de l'olivier à Roviès en Eubée en 1956, étude inédite présentée au Ministère de l'Agriculture, Direction de Phytopathologie, Volo 1956 (en grec).

17. Staudenmayer Th. — Influence de l' «E 605» sur la respiration des œufs du ver à soie. *Höfchen-Briefe* No 3, 1953.

Imprimerie HESTIA
Mavromihali 134
Athènes